



Les Cahiers de SudBiotech 2007-2017 • Cahier 1 : Les ressources pédagogiques

Thierry Beulé - Yves Henry - Aimé Nato - Alain Rival



Comprendre et maîtriser les Biotechnologies au Sud

Les Cahiers de SudBiotech 2007-2017
Cahier 1 - Les ressources pédagogiques

Thierry Beulé - Yves Henry - Aimé Nato - Alain Rival



Comprendre et maîtriser les Biotechnologies au Sud

Les Ateliers de SudBiotech : 2007-2017

Ressources pédagogiques et protocoles expérimentaux
en Biotechnologie Végétale

Cahier 1

Les ressources pédagogiques

Approfondir les thèmes principaux de l'Atelier

Thierry BEULE • Yves HENRY • Aimé NATO • Alain RIVAL

Sous l'amical parrainage de Michel DRON, Professeur Emérite à l'Université Paris-Saclay

Les Partenaires de SudBiotech

Au Bénin

UNIVERSITÉ ABOMEY CALAVI

Prof SANNI Ambaliou
Dr AYI FANOU Lucie
Dr ATINDEHOU Mènouvè Cynthia
Dr LAGNINKA Latifou
Dr CHABI Nicodème
Dr ADEOTI Kifouli
Dr DEJATIDIN Gustave

AFRICA RICE

Dr NJIONDJOP Marie-Noelle
Dr MENOZZI Philippe
Dr SOW Mounirou
Mme FATONDJI Blandine
Mr GOUDA Comlan Arnaud
Mr GBEDISSI Loris

En Algérie

ENSB CONSTANTINE

Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologies -
Prof RACHED Oualida
Prof BOUSSEBOUA Hacène
Ing HAFDI Ouissem

En Tunisie

FACULTE DES SCIENCES DE SFAX

Prof Nouredine DRIRA
Dr Lotfi FKI

SudBiotech est avant tout une aventure humaine, un engagement désintéressé qui aura requis une vision, des convictions, une détermination sans faille et surtout une confiance ambitieuse en des possibles...

Les objectifs étaient tracés dès le début de notre aventure, il s'agissait bien de partager, former, transmettre tout en relevant de nombreux défis pour accompagner, concrétiser, pérenniser... et convaincre !

Cette vision partagée est devenue réalisable à partir du moment où, réunis entre amis, nous avons décidé de bâtir sur ce que nous sommes, chercheurs expérimentés et enseignants convaincus de notre rôle dans l'aide au développement. Nous étions d'accord pour se souvenir d'où nous venions et, à partir de nos trajectoires d'étudiants, puis de chercheurs et d'enseignants, nous rassemblé l'essentiel, puis construit un itinéraire pédagogique original, réadapté, simplifié pour finalement garder l'essentiel et convaincre...

Il nous faut saluer le courage, la persévérance et l'appui sans faille de nos partenaires du Sud, en particulier du Professeur Ambaliou Sanni, qui a immédiatement saisi la portée de notre initiative et son pouvoir d'entraînement pour les jeunes chercheuses et chercheurs de son équipe béninoise.

Il nous est impossible d'oublier le soutien des responsables d'AfricaRice, à travers la grande confiance et l'amitié de longue date accordées par Marie-Noëlle Ndjondjop, ainsi que l'appui sans réserve d'Oualida Rached et Houcène Bousseboua à l'Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie de Constantine et, plus récemment, la complicité de Lotfi Fki et Nouredine Drira, enseignants et formateurs passionnés à la Faculté des Sciences de Sfax.

Nos parrains de la première heure, Serge Hamon à l'IRD Montpellier et Michel Dron à l'Université d'Orsay, ont immédiatement cru en ce projet, en la possibilité de mettre en place sur place, en complément aux initiatives pédagogiques virtuelles, un itinéraire pédagogique original, basé sur un enseignement uniquement présentiel et tourné résolument vers l'expérimentation et l'interprétation collectives.

Il a fallu aussi avancer, persévérer, convaincre encore, pour attirer les financements et les partenaires et élargir les thèmes proposés... Le chemin de la connaissance est

passionnant et la voie du partage tellement enrichissante ! Nos étudiants attendaient de nous que l'on les tire vers le haut, que l'on attise encore plus leur soif d'apprendre, leur souhait de prendre leur destin en main.

A nous, l'équipe enseignante, leur faire comprendre qu'il n'y a pas de fatalité, ni en Afrique ni ailleurs.

Nous avons réussi à convaincre des bailleurs d'horizons divers à nous soutenir et à rendre pérenne l'initiative SudBiotech: le Cirad, l'IRD, l'Université Paris-Sud Orsay, le CNRS, l'Agence Universitaire de la Francophonie, l'Université Paris-Sud Orsay, les Ambassades et Institut Français de France à Alger et à Tunis... Il était très important pour nous d'associer dès le début nos partenaires du Sud, et spécialement les jeunes chercheurs, à cet exercice de recherche de financements sur projets, désormais indispensable à l'activité de l'enseignant-chercheur, au Sud comme au Nord.

Nous fêtons cette année les dix ans de SudBiotech (déjà !) : dix ans de découvertes et d'apprentissages, de Cotonou à Sfax en passant par Ouagadougou et Constantine.

Soucieux de rendre accessibles à celles et ceux qui voudront bien prendre la suite, au Nord comme au Sud, de ces dix années d'expériences accumulées, nous avons décidé d'éditer les Cahiers de SudBiotech, destinés à rassembler l'essentiel des ressources pédagogiques et des supports d'enseignement de cours et, surtout, de travaux pratiques que nous avons mis en place, améliorés et affinés collectivement au cours de cette décade.

Il nous importe de laisser une trace écrite, pratique, utilisable, modelable à souhait pour que nos étudiants, une fois devenus enseignants-chercheurs, puissent s'approprier cette démarche en laquelle nous croyons toujours dur comme fer : observer, découvrir, expérimenter, discuter, critiquer... et encore améliorer ensemble. Nos anciens étudiants, qui nous demandent encore d'intervenir, à Constantine, Sfax ou Cotonou ont bien compris la valeur irremplaçable de cet itinéraire pédagogique collectif.

Nous voulons leur laisser un outil simple pour continuer à avancer et à encourager les vocations scientifiques, surtout chez les jeunes Africaines pour qui la route est encore plus longue.

A qui d'autre qu'à Michel Dron et Serge Hamon devrait revenir le privilège de préfacer cet ouvrage, eux qui nous auront soutenus depuis la première session prémonitoire de SudBiotech au Liban jusqu'à la dernière édition en date?

La problématique de la formation des jeunes à l'agriculture sur le continent africain est la question majeure des décennies à venir. En effet, l'Afrique est le continent qui connaît et va continuer à connaître la démographie la plus forte pendant cette période, et qui va aussi certainement subir de fortes perturbations liées au changement climatique.

Par conséquent, la production agricole pour l'alimentation des populations et l'amélioration de leur niveau de vie va constituer un enjeu capital. Les fondements pour atteindre cet objectif sont multifactoriels et multidisciplinaires, et l'innovation variétale n'en étant pas le moindre.

Les biotechnologies végétales ont montré leur potentiel considérable dans les pays du Nord et apporteront, à très court terme, une contribution tout aussi importante pour les productions tropicales. Leur utilisation nécessite des compétences spécifiques, impliquant des connaissances pratiques et théoriques. Et c'est dans ce domaine que s'investissent de manière exemplaire, sans compter, depuis 10 ans régulièrement, les personnes engagées dans SudBiotech.

Initié officiellement dans le cadre d'un projet Européen en interaction étroite avec l'Université de Kaslik au Liban, ils ont ensuite continué à Ouagadougou, Cotonou, Sfax, Constantine, formant par la théorie et la pratique des dizaines voire centaines d'étudiants qui ont ensuite eu des parcours réussis, contribuant à ce développement si important des outils pour une agriculture productive, responsable sur le continent africain.

De tels investissements sont tellement essentiels à l'équilibre humain et social. Les textes qui suivent constituent une mémoire initiale à adapter progressivement et pérenniser sur le long terme, avec des équipes SudBiotech renouvelées, pour atteindre les objectifs d'une Société africaine heureuse.

Michel Dron, Professeur à l'Université Paris-Sud, Orsay.

Serge Hamon, Directeur de Recherches à l'Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier.

Vents du Sud : les mots qui réchauffent...

Mme Marie Noëlle Ndjiondjop
AfricaRice, Côte d'Ivoire

Appliquées à l'agriculture, les biotechnologies ont permis de réaliser des progrès considérables : un meilleur rendement des cultures, des plantes plus résistantes aux maladies, aux parasites, à la sécheresse... Tous ces résultats sont très enthousiasmants et c'est pourquoi l'Afrique se doit de participer à cette importante révolution technologique pour le développement durable de ses populations.

La mission de SudBiotech est celle d'AfricaRice : elle est de contribuer à la sécurité alimentaire et à la réduction de la pauvreté en Afrique, à travers la recherche et le partenariat mais aussi par la formation des jeunes talents africains de demain, afin qu'eux-mêmes puissent transmettre cette passion de la recherche à la génération suivante.

Les problèmes de sécurité alimentaire et de changement climatique feront qu'il sera plus difficile pour l'Afrique de lutter contre la pauvreté et la malnutrition, c'est pourquoi aujourd'hui beaucoup de pays africains sont en train de se tourner vers les biotechnologies. Il reste encore du travail pour que les acteurs des biotechnologies puissent développer et mettre à la disposition des utilisateurs finaux africains des variétés capables de satisfaire aux demandes des agriculteurs.

Mr Ambaliou Sanni, Professeur des Universités
Université d'Abomey Calavi, Bénin.

Le projet SudBiotech a été pour notre formation de Biochimie, Biologie Moléculaire et Applications à l'Université d'Abomey-Calavi, un complément d'enseignement très apprécié de nos étudiants, doctorants et jeunes enseignants.

Grâce à son programme de formation intégrée en biotechnologie végétale, constitué de séminaires, d'exposés et de travaux pratiques, SudBiotech a permis un renforcement des capacités en biologie moléculaire végétale de tous les participants à ses différentes rencontres. Ainsi, les cultures de cellules végétales *in vitro*, les embryons somatiques, l'extraction de l'ADN végétal et leur manipulation ou encore la recherche des produits d'expression des gènes par ELISA ou Western Blot... ont été démystifiés et maîtrisés par chacun des participants à ces formations.

Mes collègues et moi-même sommes tous reconnaissants à l'équipe du SudBiotech, qui non seulement a permis le renforcement de notre enseignement de biologie moléculaire, mais aussi a réussi à former, grâce à des codirections de thèse, des docteurs ès Sciences qui ont tous aujourd'hui intégré le corps des enseignants-chercheurs des Universités Nationales du Bénin, dont certains ont des postes de responsabilités tels que Doyen et Chef de Département.

Mme Oualida Rached

Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie de Constantine, Algérie.

L'Atelier SudBiotech organisé à Constantine en octobre 2016 a été très bénéfique à l'ensemble des participants, qui ont acquis beaucoup de connaissances et de savoir-faire en matière de physiologie végétale et de biologie moléculaire. Cet Atelier a permis à certains apprenants de se familiariser avec le domaine de la biologie moléculaire auquel ils étaient étrangers et à d'autres de s'y perfectionner.

Au nom de tous les apprenants, je remercie infiniment toute l'équipe SudBiotech pour tout le temps qu'ils ont consacré, sans désespérer, à cet Atelier, en transmettant tout leur savoir-faire et leurs connaissances avec un total désintéressement. Je ne regrette qu'une chose : n'avoir pas pu encore organiser immédiatement la suite de cet Atelier!

Les témoignages des survivants...

Mr Kifouli Adeoti, Maître de Conférences
Université d'Abomey Calavi, Bénin.
Promotion 2007.

La lecture des Cahiers de SudBiotech me fait rappeler dix années en arrière. Je me vois encore, en écrivant ces quelques mots, assis devant ces auteurs comme participant à la 1ère édition de formation SudBiotech au cours de ma toute première année de thèse.

Aujourd'hui, je suis passé de simple participant, il y a une dizaine d'années au statut d'acteur formateur. Ceci constitue un bel exemple de ce qu'on peut qualifier de : « les fruits ont tenu la promesse des fleurs ». Tout acteur du monde de l'enseignement supérieur ou de la recherche, enseignant-chercheur, étudiant en Master ou doctorant s'aura s'abreuvé à cette source qui est la riche compilation de plusieurs années d'expériences d'hommes dévoués à la cause des autres, soucieux de partager et de transmettre leur connaissance, leur savoir et expérience dans le domaine des Biotechnologies végétales.

SudBiotech a été un atout majeur au cours de ma thèse et cette expérience continue à me servir aujourd'hui dans l'amélioration de mes enseignements. C'est dire que les enseignants sauront, à travers cet ouvrage, adapter les contenus de leur enseignement et améliorer leurs travaux dirigés et pratiques.

Quant aux étudiants, cet ouvrage rappelle les notions fondamentales de biologie bien utiles en biotechnologies végétales et décrit des cas pratiques qui peuvent être reproduits dans un cadre pédagogique. Ils trouveront des éléments de réponse aux enseignements théoriques et pratiques qui pourront renforcer leurs connaissances. SudBiotech est un concept parfait de formation au Sud qui s'est installé dans la durée, et que les acteurs ont su consolider et améliorer au cours des différentes sessions qui se sont succédées ces dernières années.

Cette compilation de dix années d'expériences ne doit pas s'en arrêter là. SudBiotech est un modèle réussi de formation au Sud qui doit être exporté dans d'autres régions. Je crois qu'il nous incombe à tous de pérenniser l'initiative et j'espère que tout lecteur saura trouver la force et la conviction nécessaires pour continuer cette œuvre tant utile, car toute génération a besoin de se former et de bien se former.

Mme Ouissem Hafdi, Ingénieure d'état des laboratoires universitaires
ENSB Constantine, Algérie.
Promotion 2016.

Apprendre, découvrir et pouvoir mettre en pratique, c'est du bonheur pour moi. Je m'estime chanceuse d'avoir eu l'opportunité de participer à la formation SudBiotech : dix jours de découverte, avec convivialité dans la bonne humeur. En travaillant en groupes avec mes collègues de l'ENSB et CRBT (Centre National de Recherche en Biotechnologie). Les échanges entre nous ont été très enrichissants.

SudBiotech m'a permis d'améliorer mes compétences et surtout en pratique. J'ai eu la possibilité de mettre en pratique des techniques acquises auparavant théoriquement, durant mes années de formation à l'université. Cette formation a ajouté beaucoup à mon parcours professionnel, car elle m'a aidé de mettre ces compétences acquises dans mon travail quotidien. SudBiotech ce n'ai pas uniquement dix jours c'est une suite à d'autres aventures scientifiques, elle m'a convaincue de développer mes connaissances en biologie moléculaire.

L'excellence de cette formation si riche et constructive est assurée grâce à des formateurs de grande compétence scientifiques, disponibles et toujours à l'écoute, qui ont mis toutes leurs expériences à notre disposition. Des gens formidables de grandes qualités humaines si modestes, sympathiques et d'esprit ouvert.

Je resterai toujours reconnaissante pour tous ce qu'ils ont donnés pour l'ENSB et pour moi personnellement.

Je vous souhaite une bonne continuation et d'autres réussites SudBiotech, en espérant de vous accueillir une deuxième fois à Constantine.

Dr Lambert Gustave Djedatin
Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Dassa-Zoumé
Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématique (UNSTIM),
Bénin
Promotion 2008

SudBiotech : un enfant adulte !

SudBiotech est un format de formation qu'il faille créer s'il n'existait pas.

En effet, cela fait dix ans que les géniteurs, auteurs de cette formation, ont eu l'idée géniale de combler un vide en formation dans le domaine des biotechnologies au Sud.

L'aventure a commencé au Bénin par un atelier de formation organisé à l'intention des étudiants en master et en thèse. Etant en thèse, j'ai eu donc le privilège de participer à ce premier atelier qui, au fil des ans, s'est étendu à l'Afrique de l'Ouest en enrôlant non seulement des étudiants mais aussi des chercheurs et enseignant-chercheurs.

SudBiotech m'aura formé non seulement en biotechnologie mais aussi en biologie moléculaire, en génomique et en bio-informatique. Ces différentes formations m'ont permis de faire une bonne thèse et constituent, à ne point en douter, un support pour mes enseignements aussi bien théoriques que pratiques.

En dix ans, SudBiotech a formé plus d'une centaine de jeunes Africains qui sont devenus des formateurs qui pérennisent les acquis de ses pères fondateurs dévoués à la formation des formateurs et au renforcement des capacités des chercheurs du Sud. A peine né, SudBiotech, est en même temps devenu adulte au regard des résultats impressionnants obtenus.

Nous recommandons fortement cet ouvrage à la communauté universitaire des pays du Sud car il constitue un très bon support de cours théoriques et de travaux dirigés et permet de réaliser des travaux pratiques simples et à moindre coût.

Bienvenue à bord !

Notre Formation SudBiotech va couvrir 50-70 h d'activités ; elle s'adresse aux étudiants de Mastère, aux doctorants, aux enseignants et aux chercheurs soucieux d'acquérir ou de se familiariser aux outils modernes en Biotechnologies Végétales, qui incluent désormais les Physiologie et Biologie Moléculaires.

Notre objectif fondamental est de prendre en considération des demandes spécifiques des participants et l'intégration de nos réponses dans les domaines de Recherche propres aux apprenants.

Pour ceux ou celles qui sont impliqués dans l'enseignement de la biologie végétale moderne, il va s'agir d'acquérir et/ou de développer, dans un dialogue interactif avec les encadrants SudBiotech, des thématiques de cours magistraux, de travaux pratiques et de travaux dirigés, qui seront indispensables dans le cursus Licence-Master-Doctorat adopté désormais par les Universités du monde entier.

Au cours de cet Atelier, les séminaires introductifs viendront présenter les différentes thématiques sélectionnées et articulées dans un parcours pédagogique cohérent.

Ils vous aideront à ne pas perdre le fil conducteur de cet itinéraire. Ils seront accompagnés, illustrés et critiqués lors de séances de travaux dirigés et de travaux pratiques qui vous serviront à élaborer vos propres activités pédagogiques.

Nous vous proposons un ensemble cohérent de Cours/TD/TP qui vous conduira à élargir les données expérimentales obtenues sur des sujets de recherche ou des thématiques d'enseignement liés aux Biotechnologies Végétales.

Le métier de chercheur est aussi celui de la restitution et de la communication : votre apprentissage comprendra également des temps de prise de parole et de discussion collectifs : il s'agira d'aller à l'essentiel, de partager nos informations et nos expériences, de critiquer, comparer et proposer collectivement.

L'ensemble des thèmes abordés reflète les compétences de chaque encadrant; il n'a pas de volonté exhaustive, mais votre parcours a été conçu pour démystifier les Biotechnologies et en maîtriser les outils modernes, en vous proposant quelques approches expérimentales pertinentes, qu'il vous appartiendra d'enrichir et de compléter.

Si à l'issue de ces journées de travail en commun, vous avez acquis le goût d'expérimenter pour comprendre, alors nous aurons réussi.

Si tu vois un serpent sur une bicyclette, c'est qu'il a trouvé un moyen de pédaler.

Les Biotechnologies, pourquoi ?

Les Biotechnologies reposent sur l'utilisation des organismes vivants par l'homme, à des fins de production de substances de natures diverses. Elle est donc très ancienne, puisque l'on peut ranger derrière cette définition une partie des activités agricoles que sont la fabrication des fromages, du vin, de la bière, du yaourt, du pain...

Désormais, les biotechnologies intègrent le génie génétique, une approche issue de la Biologie Moléculaire, qui consiste à modifier de manière ciblée l'ADN, support de l'hérédité. Ces techniques tirent profit de l'universalité du code génétique et permettent de commander à des organismes vivants d'exécuter un programme génétique contenu dans un ou plusieurs gènes provenant d'un autre organisme. L'irruption des méthodes du Génie Génétique dans la Biotechnologie en a considérablement élargi les possibilités. A titre d'exemples citons la production de l'insuline humaine et de l'hormone de croissance par des microorganismes.

L'application du concept de totipotence de la cellule végétale a permis de nombreuses applications biotechnologiques (multiplication végétative, clonage, production des haploïdes, hybridation somatique, transgénèse végétale).

Dans le monde végétal, il y a bien longtemps que l'existence de cellules souches a été constaté, puis exploité par le biais des biotechnologies cellulaires, à des fins agronomiques et horticoles. Les Plantes Génétiquement Modifiées (PGM) sont surtout connues du Public pour l'introduction de nouveaux caractères d'intérêt agronomique dans des variétés cultivées.

Actuellement, outre ces applications à l'amélioration des plantes, la transgénèse intéresse les industries biopharmaceutiques, qui voient dans les cellules végétales et les plantes (vitroplants), de nouvelles usines capables de produire à coût réduit des protéines et des molécules à forte valeur ajoutée.

Les protéines recombinantes ainsi produites peuvent être purifiées facilement à partir d'un milieu de culture d'une composition très simple. Par ailleurs, les risques de contamination des cellules végétales par des virus pathogènes pour l'humain, sont très faibles, sinon inexistantes.

Les récents travaux ouvrent des espoirs dans la production des « vaccins comestibles » à usage humain, contre par exemple la carie dentaire, le choléra, le virus de l'Herpes et contre des cellules cancéreuses. La production d'anticorps entiers ou de fragments d'anticorps par les plantes transgéniques, pour des usages diagnostics thérapeutiques est en pleine expansion.

Ces premiers succès ouvrent déjà des perspectives intéressantes, puisque la mise en champs de ces OGM de nouvelle génération, n'est plus toujours nécessaire.

Ce type d'Agriculture dite Moléculaire permet d'exploiter les potentiels du génie génétique et de la biotechnologie, pour faire produire par des plantes ou des cellules des molécules à usage scientifique, médical ou pharmaceutique.

Elle se définit comme l'utilisation des cellules végétales en tant qu'usines biologiques pour l'obtention de molécules à l'échelle industrielle. Les avantages de ces plantes transgéniques sont multiples : une rapide production de biomasse en quantité importante, une absence de contaminations dangereuses pour la santé humaine, un coût de production réduit, un surcroît de qualité et d'activité biologique des molécules produites, voire une possibilité de meilleur stockage lié à la stabilité des molécules.

Dans la mesure où la production de protéines recombinantes par des plantes transgéniques cultivées en conditions de champ se heurte à de nombreux blocages sociologiques et écologiques, notamment en Europe, l'ingénierie génétique de cellules végétales cultivées en milieu confiné offre une alternative très sérieuse.

Les cellules des plantes supérieures paraissent constituer d'excellents bioréacteurs, et ont démontré leur capacité à produire des molécules humaines complexes telles que ces *planticorps* (i.e. anticorps monoclonaux produits par des plantes).

CAHIER 1

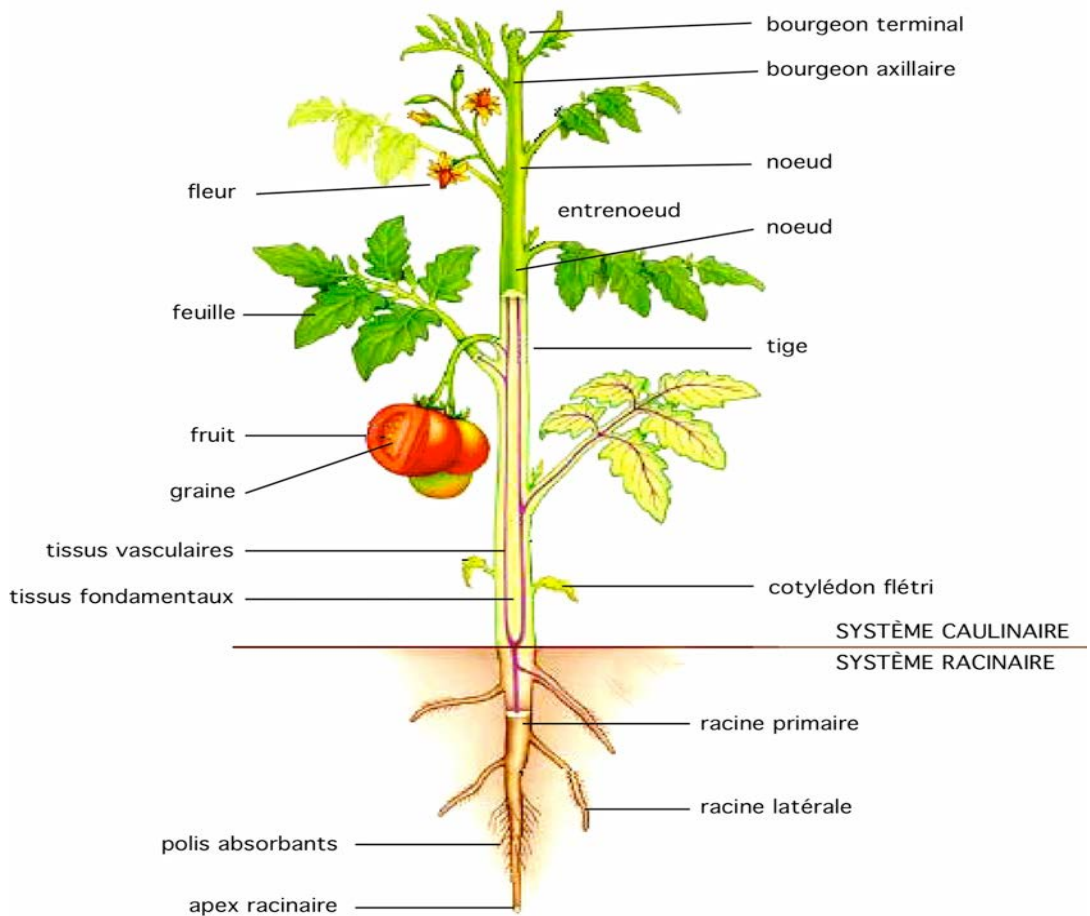
Les ressources pédagogiques

Pour approfondir les thèmes principaux de l'Atelier

MOTS CLES : Cycle de développement, construction de la plante, méristèmes, totipotence végétale, signaux de développement, dormance et germination, hormonologie végétale, marqueurs biochimiques du développement, biotechnologies végétales, transgénèse végétale, OGM.

I.	Concepts fondamentaux sur la croissance et le développement des plantes supérieures : la construction d'une plante à fleurs	15
II.	La germination : Aspects physiologiques et biochimiques	28
III.	Le concept de totipotence de la cellule végétale : Apports des cultures <i>in vitro</i> et éléments de programmation morphogénétique	45
IV.	Les bases de l'hormonologie végétale	49
V.	Quelques thématiques fondamentales en lien avec les biotechnologies végétales	64
VI.	La transgénèse végétale	67
VII.	Les OGM et leurs multiples facettes	74
VIII.	Une étude Canadienne sur les OGM alimentaires	79
IX.	La production de molécules biopharmaceutiques par les systèmes végétaux	107
X.	Pour en savoir plus...	139

I. Aspects Fondamentaux sur la Croissance et le Développement des Plantes Supérieures ou la Construction d'une Plante à Fleurs



Le regain d'intérêt pour le monde végétal, notamment pour l'Ecologie, la Biodiversité, les plantes médicinales, s'explique en partie par le fait que les Sciences du Végétal ont enregistré ces dernières d'années d'importantes avancées en Génétique, en Biologie Moléculaire et en Ecologie.

Les travaux sur les Plantes Supérieures ont permis l'essor des connaissances sur leur génome (séquençage du génome entier d'*Arabidopsis*, du riz et de bon nombre d'espèces d'intérêt agronomique majeur), sur les protéines codées par ces gènes (protéomique), sur la physiologie de ces plantes (métabolomique), sur leurs capacités d'adaptation aux contraintes environnementales et sur les interactions avec les facteurs biotiques et abiotiques (écologie).

Ces avancées ont ouvert des perspectives nouvelles et extraordinaires, en particulier celles liées à la transgénèse végétale, avec toutes les conséquences que l'on connaît en termes d'applications dans le domaine agricole. Depuis une décennie, un secteur est en pleine exploitation, celui de l'utilisation de ces outils techniques dans les secteurs pharmaceutique et médical.

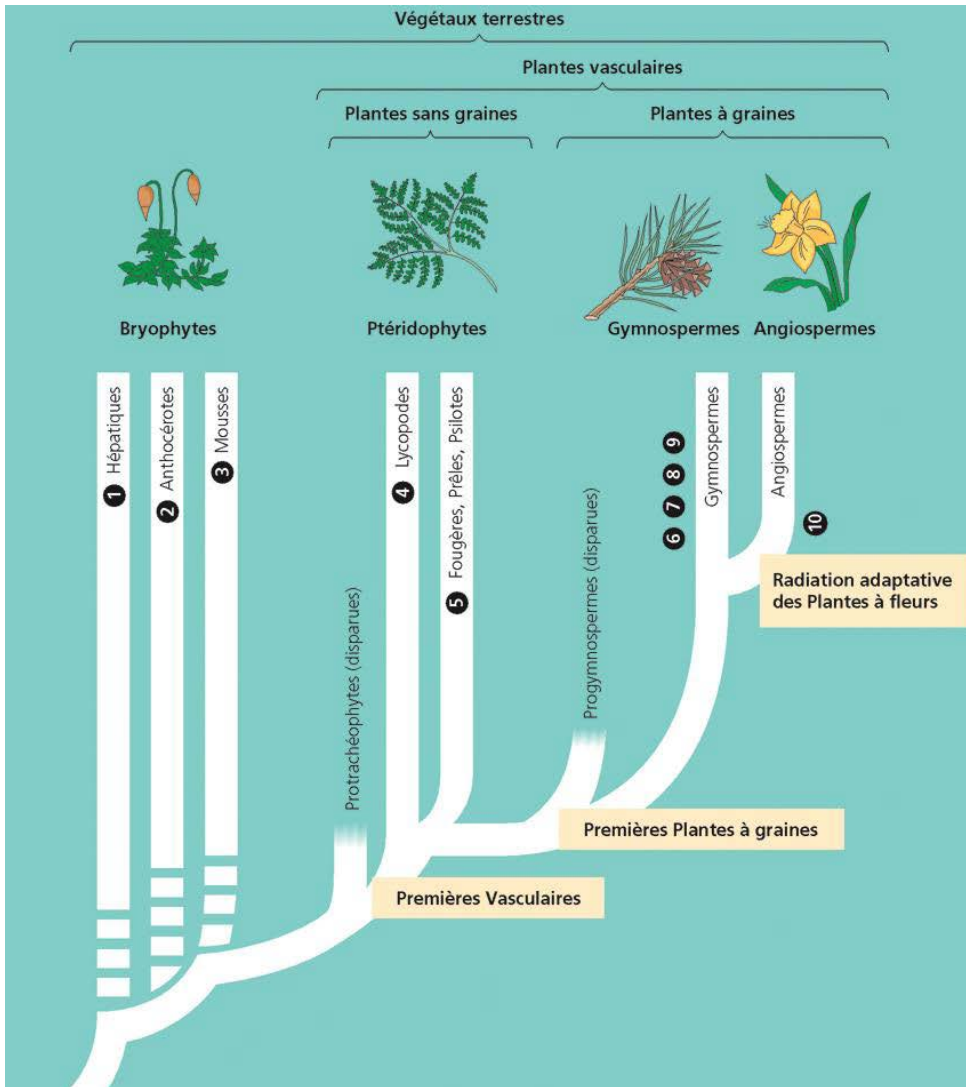
L'objectif de cette première partie est de parcourir différentes facettes des sciences du végétal, la construction de la plante, les mécanismes régissant la division cellulaire, les signaux de développement, aboutissant à une meilleure compréhension des biotechnologies végétales.

Les Angiospermes ou Plantes à Fleurs appartiennent à l'Embranchement des Spermaphytes. On en dénombre 300-400 000 espèces réparties sur 300 familles et apparues il y a près de 145 millions d'années (Crétacé).

Angio = cavité (ovules cachés dans un ovaire à la différence des Gymnospermes où l'ovule est nu) et apparition du fruit protégeant une ou plusieurs graines.

Les Gymnospermes (vient du Grec *gymnos* qui veut dire nue et *sperma* qui veut dire graine) ne possèdent pas d'ovaires et sont des végétaux qui portent des cônes, au nombre de 900 espèces, principalement les pins ou Conifères dont il ne subsiste que quelques fossiles vivants comme le Ginkgo et les Cycas par exemple.

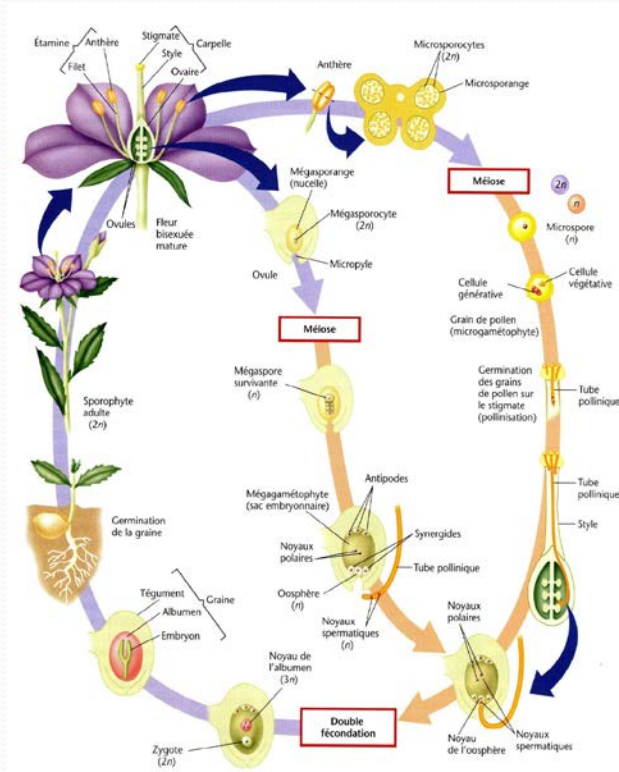
Il faut aussi se rappeler que le règne végétal comporte le groupe des Phycophytes (Algues), les Bryophytes (Mousses) et les Ptéridophytes (les Fougères).



Les Eucaryotes sont des organismes dont la ou les cellules sont composées d'un véritable noyau délimité par une membrane nucléaire, et comprenant plusieurs chromosomes et d'un ou plusieurs nucléole(s). La cellule Eucaryote permet d'observer plusieurs catégories d'organites intra cytoplasmiques, parfois de structure complexe, et dont certains possèdent leur propre ADN (mitochondries, chloroplastes).

Les Eucaryotes comprennent des espèces pluricellulaires (animaux, végétaux, champignons filamenteux) et des espèces unicellulaires (par exemple paramécie, algues unicellulaires, certaines levures...).

Exemple de cycle de développement



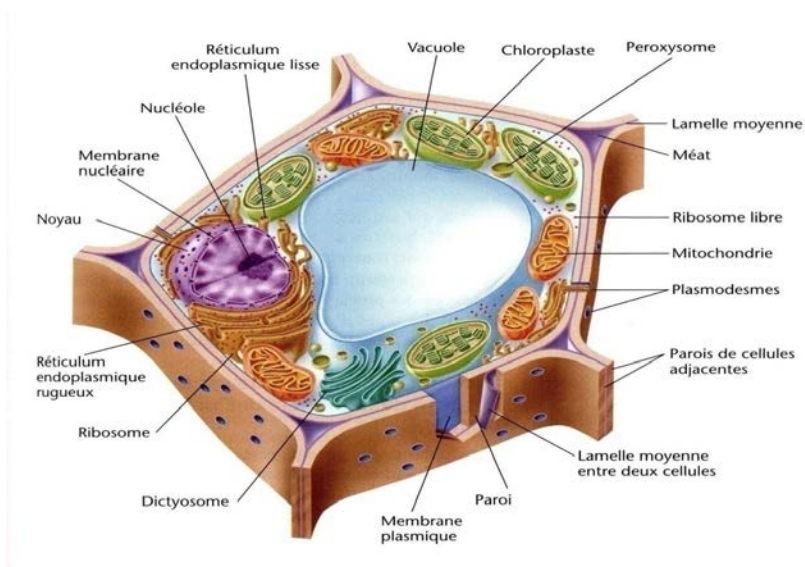
Les plantes à fleurs ou Angiospermes se distinguent par certaines grandes caractéristiques, originales et spécifiques des différentes étapes de leur cycle de développement.

Il est aussi utile de passer en revue les Concepts Généraux, Fondamentaux qui régissent la Construction et le Développement des Plantes Supérieures.

1. Les Plantes Supérieures sont des Organismes vivants fixes, soumis aux contraintes et aux attaques extérieures.
2. Le rôle des facteurs externes (CO_2 , H_2O , température, lumière...) est essentiel dans la régulation de leur développement.

3. Sur le plan cellulaire, la présence d'une paroi pectocellulosique semi-rigide autour de la cellule végétale rend impossible les mouvements ou les migrations cellulaires au cours des processus de développement des plantes, d'où l'importance du processus de l'établissement de la polarité dès les premières divisions dans le zygote.
4. Ce sont des organismes dits autotrophes, donc tributaires pour leur nutrition d'échanges permanents avec la Biosphère.
5. Il n'y a pas de ségrégation d'une lignée germinale au cours de l'embryogenèse zygotique, et la mise en place des cellules sexuelles est liée à la floraison. Ce phénomène très complexe est déclenché par des facteurs de l'environnement, des facteurs endogènes (hormones) et des corrélations morphogénétiques.
6. Les processus de développement (croissance-différenciation-organogenèse-morphogenèse) ne sont pas restreints comme chez l'animal au développement embryonnaire, mais transférés aux foyers et tissus méristématiques qui conservent la capacité de se diviser, se différencier, se redifférencier de nouveau jusqu'à régénérer une plante entière (clone). Les végétaux supérieurs sont donc capables d'établir une organogenèse permanente ou indéfinie (concept de totipotence de la cellule végétale).

Anatomie d'une cellule végétale



Qu'entend-on par Développement ?

Ce terme va recouvrir l'ensemble des modifications quantitatives et qualitatives qui interviennent au cours de l'édification d'une plante, depuis la fécondation jusqu'à la mort.

On peut distinguer plusieurs étapes au cours du développement :

1. Stade intra maternel ou ovule fécondé jusqu'à la graine (Pollinisation, Fécondation, Embryogenèse).
2. Stade externe c'est à dire libération et dissémination de la graine à l'état de vie ralentie (maturation et dormance).
3. Stade de dépendance nutritionnelle ou passage à la vie active avec utilisation des réserves de la graine (Germination).
4. Stade de la croissance végétative.
5. Evolution vers l'état adulte autotrophe et étape de formation des organes de reproduction (floraison).
6. Stade adulte reproducteur (maturité sexuelle).
7. Etat sénile ou Phase de sénescence.

Au cours du Développement, deux types de transformations s'opèrent plus ou moins simultanément :

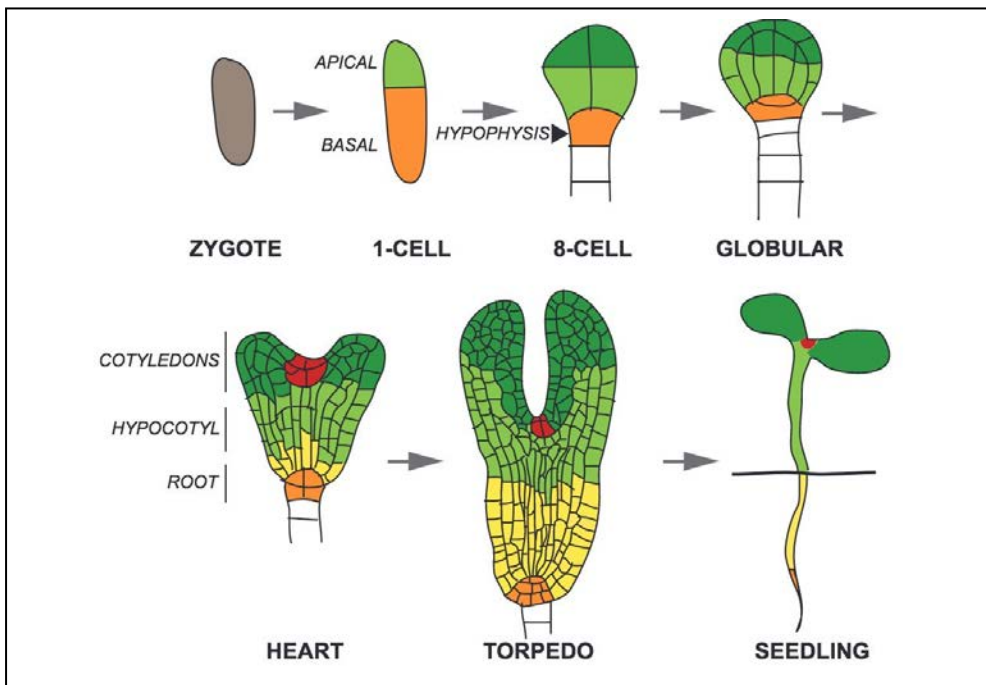
- Des transformations quantitatives irréversibles comme l'augmentation du nombre de Cellules (mérese), l'élongation cellulaire (auxèse), de la taille, de l'épaississement et de la ramification des organes. Ces modifications correspondent à la Croissance.
- Les transformations qualitatives qui correspondent à l'acquisition d'une spécialisation ou d'une différenciation comme par exemple le passage du bourgeon végétatif au bourgeon floral, comme la transformation d'une racine ou d'une tige en organe de réserve (tubercule, rhizome) ...

La résultante de ces transformations quantitatives et qualitatives conduit à l'acquisition d'une forme globale du végétal ou Morphogenèse.

La Morphogenèse est l'étude des conditions qui contrôlent l'expression des différents processus de croissance et de différenciation. C'est l'ensemble des interactions entre le végétal et son environnement d'une part, et des corrélations entre les différents organes de ce végétal d'autre part. Les interactions entre les organes différents (racine-tige, par

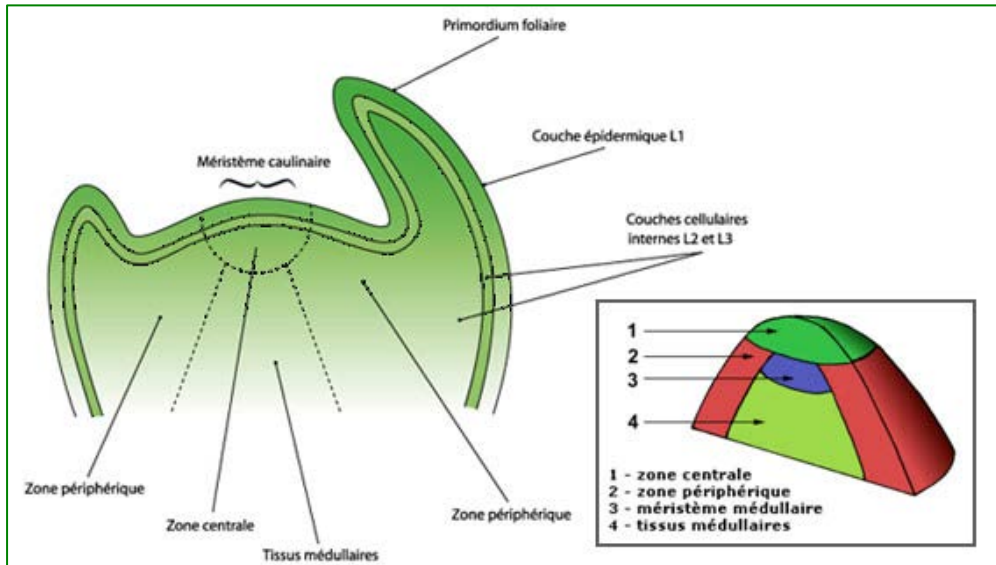
exemple) ou équivalents (bourgeons-bourgeons) ou même entre organites (mitochondries-chloroplastes) sont appelées Corrélations Morphogénétiques.

Le Développement correspond aux changements successifs de structures et de fonctions qui se produisent entre la conception et la mort chez les organismes pluricellulaires. L'embryon n'est pas préformé dans le zygote (fusion des 2 gamètes mâle et femelle). Comme on le sait, il n'y a pas, chez les plantes, de ségrégation d'une lignée germinale dans un embryon végétal. C'est une transformation méristématique qui permet la formation des organes reproducteurs durant la floraison. Après la fécondation, trois développements sont simultanés : Le zygote se transforme en embryon, pendant que l'ovule se transforme en Graine et que l'ovaire ou le réceptacle floral se transforme en Fruit.

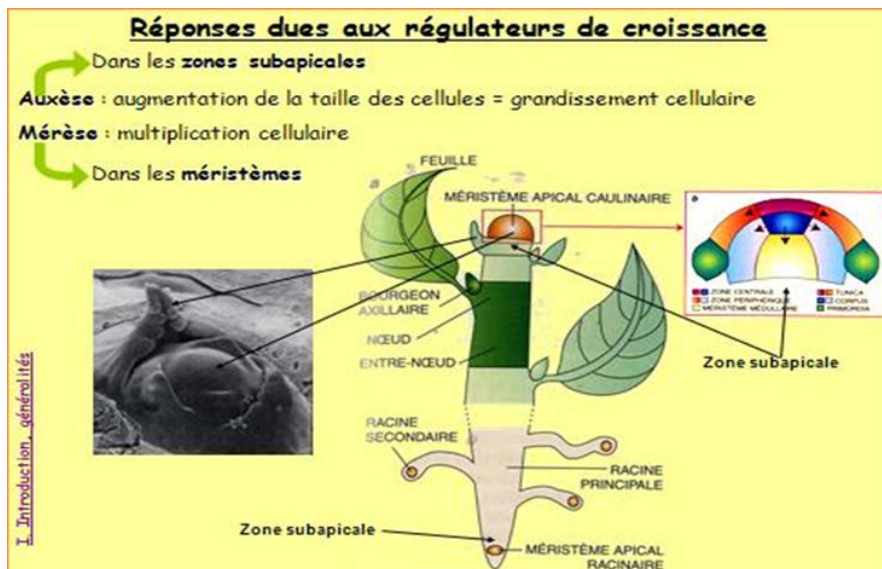


Les méristèmes, formés dès l'embryogenèse, sont des tissus dont les cellules restent indifférenciées, capables de reprendre le cycle des divisions cellulaires. Ils ont pour fonction de former les différents tissus et organes du végétal pendant toute sa vie, y compris de nouveaux méristèmes apicaux, axillaires et cambiaux...ce qui confère à une plante le pouvoir d'avoir une croissance indéfinie en longueur et en épaisseur et l'organogenèse permanente de la plante, pendant toute sa vie !

On distingue dans un jeune embryon des territoires présomptifs ou méristèmes qui sont les foyers directeurs ou domaines cellulaires ou encore cellules-souches (par référence au modèle animal) qui sont à l'origine des différentes parties de l'organisme.



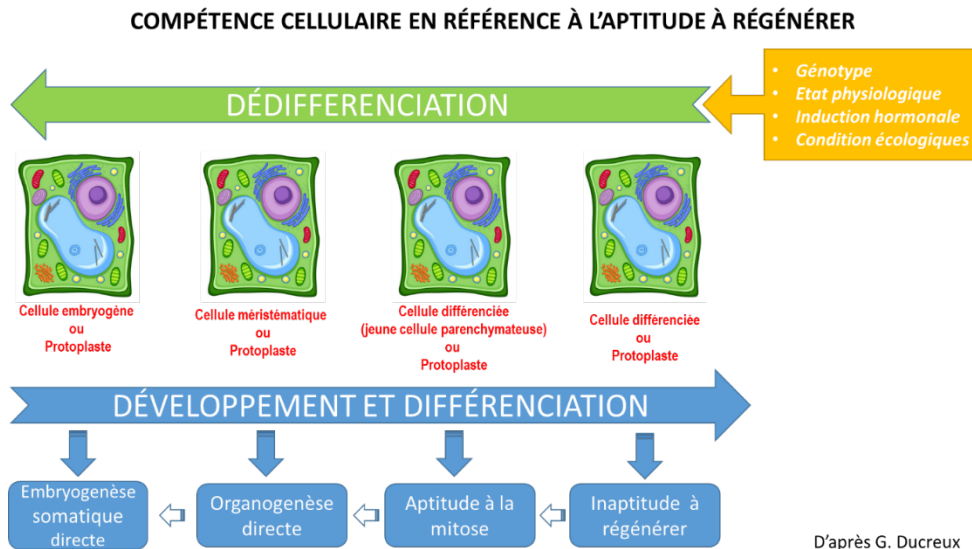
De plus, ces cellules sont dites **totipotentes**, c'est à dire que, même si elles sont différenciées, elles échappent à une détermination irréversible et sont donc capables - *in planta* ou *in vitro* - de se dédifférencier et entrer dans un nouveau programme génétique.



Le développement d'un organisme complet nécessite un fonctionnement intégré et coordonné et implique donc des communications entre cellules, entre les tissus, et entre les organes. Cette coordination au sein des tissus et des organes et entre eux, qui est indispensable se fait par des messagers (phytohormones), des signaux de développement (photomorphogénèse) et des voies de signalisation.

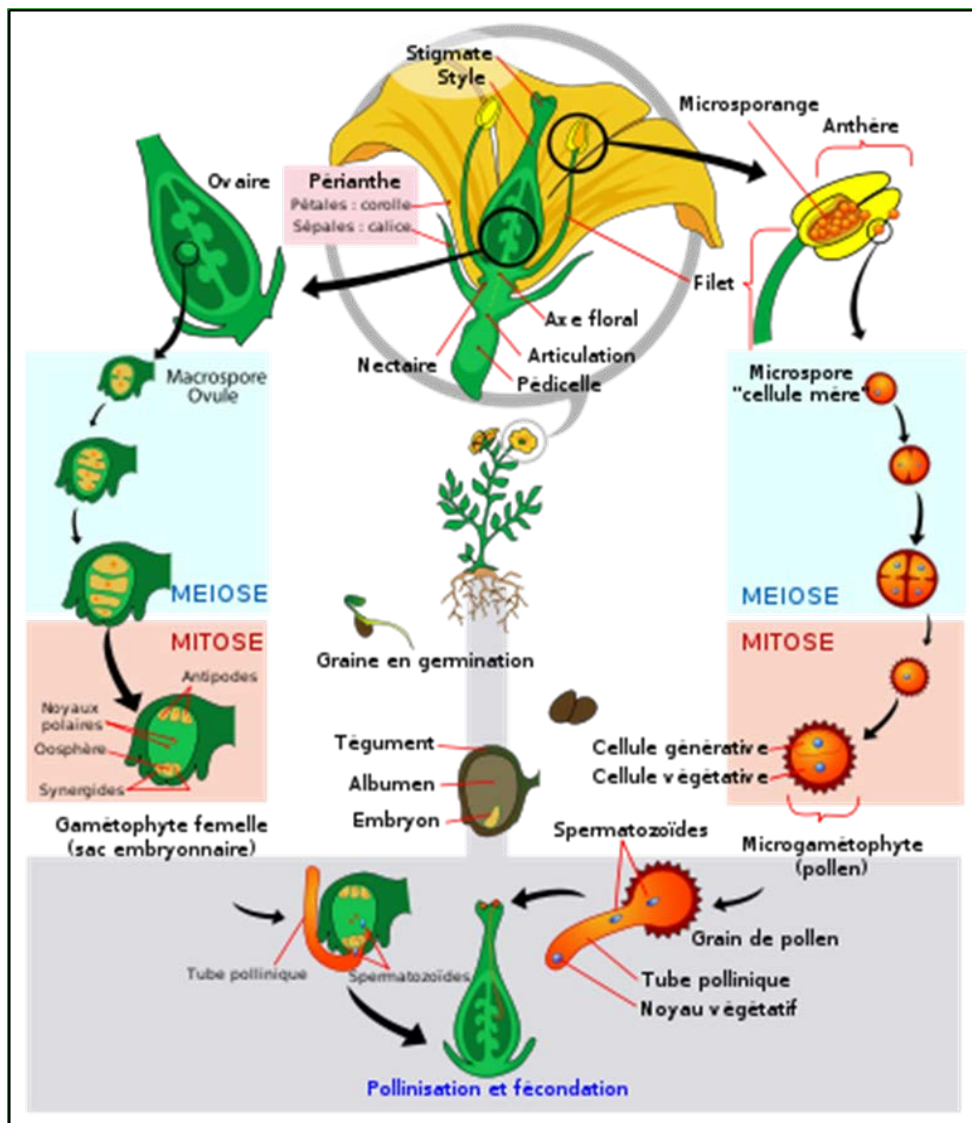
On peut donc constater que le cycle de développement met en œuvre une activité de séries de gènes avec une régularité, une coordination rigoureuse et un contrôle quasi parfait.

Cependant, ces étapes de développement correspondent à des changements successifs de structures et de fonctions et la croissance, la différenciation cellulaire et la morphogénèse sont des processus grâce auxquels aussi bien la cellule somatique végétale ou le zygote se transforme en organisme pluricellulaire.



Les étapes-clés du développement sont donc :

1. Acquisition des organes et des tissus spécialisés.
2. Efficacité photosynthétique (autotrophie).
3. Communication inter et intracellulaires.
4. Interactions à faible distance grâce aux messagers chimiques.
5. Interactions à longue distance grâce aux phytohormones.
6. Existence des corrélations de morphogénèse.



Les questions qui restent à élucider sont alors :

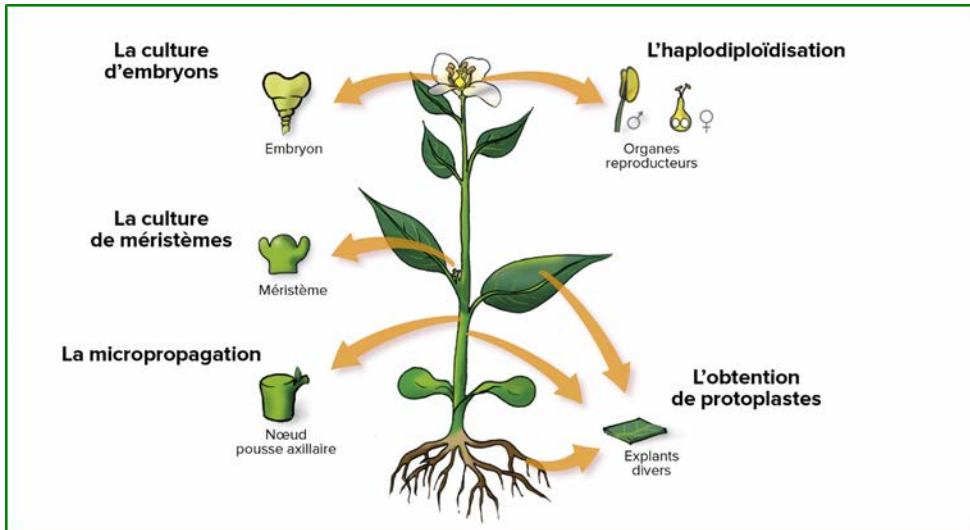
- ✓ Comment l'expression des gènes est-elle modifiée ou régulée pour différencier différents types de cellules, de tissus et d'organes ?
- ✓ Quelles sont les informations qui contrôlent la vitesse des différents processus de transformations : formes, structures et fonctions dans le temps et dans l'espace ?

Les concepts fondamentaux

- ✓ La totipotence de la cellule végétale
- ✓ La capacité d'adaptation morphogénétique ou phénotypique des plantes
- ✓ La flexibilité métabolique
- ✓ La plasticité génomique et ses applications

Ces caractéristiques originales constituent des éléments de base, indispensables et incontournables. Elles sont à la base de l'ensemble des biotechnologies végétales modernes.

Ainsi, de nombreuses applications biotechnologiques (multiplication végétative, clonage, hybridation somatique et transgénèse végétale) découlent du concept de totipotence de la cellule végétale.

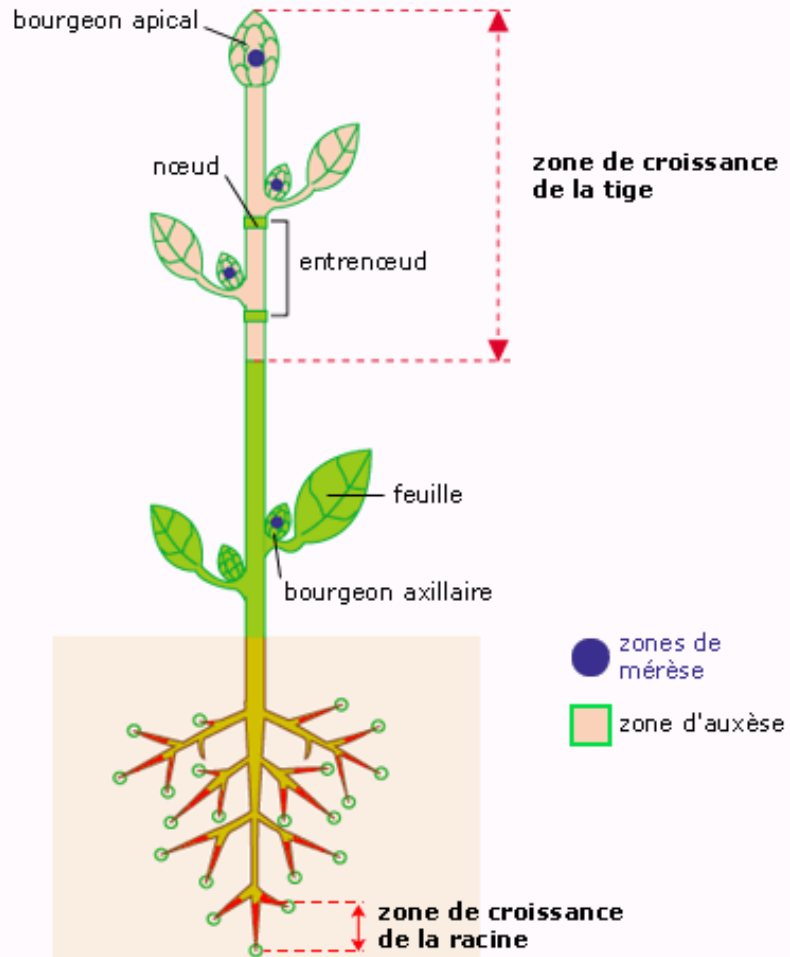


Quelques définitions utiles

Auxèse : augmentation des dimensions des cellules. L'auxèse est parfois isodiamétrique (parenchyme de la feuille, de l'écorce ou des organes de réserves) mais plus généralement longitudinale (élongation) ou radiale (croissance en épaisseur). Elle présente chez les végétaux des caractères particuliers du fait de la présence de la paroi pectocellulosique.

Auxine ou acide indole-acétique (IAA) : première hormone végétale découverte, dans les années 1920. La propriété fondamentale de l'auxine est de stimuler l'élongation cellulaire. La synthèse de l'auxine s'effectue dans les apex des tiges, dans les méristèmes et dans les jeunes feuilles des bourgeons terminaux. Le transport de l'auxine s'effectue de façon polarisée, de l'apex vers la base dans la tige et les rameaux. L'action de l'auxine sur l'élongation cellulaire se fait d'une part par augmentation de la plasticité de la paroi, d'autre part par action sur l'activité génique, régulant ainsi la synthèse d'ARN messagers codant pour des protéines nécessaires à l'élongation.

Mérèse : prolifération cellulaire. La mérèse consiste en des divisions cellulaires ou mitoses, qui s'opèrent dans des territoires spécialisés, les méristèmes, sauf dans la feuille où les divisions se répartissent sur toute la surface du limbe, ce qui explique que la feuille n'ait plus de cellules en division et que sa croissance soit limitée dans le temps.



Localisation des zones de croissance de la plante

II. La germination : Aspects physiologiques et biochimiques

Définition de la germination

La germination est une phase physiologique qui correspond à la transition de la phase de vie latente de la graine sèche à la phase de développement de la plantule. Le processus de germination commence dès que la graine sèche est hydratée. La cinétique de prise d'eau permet de caractériser la germination en trois phases (Bewley, 1997 in Anzala, 2006).

Selon Heller et al. (1990), elle est la reprise du métabolisme (absorption de l'eau, imbibition, respiration, activité enzymatique) d'un embryon, jusqu'à ce qu'il devienne une jeune plante autotrophe.

Plusieurs aspects de la germination se révèlent particulièrement intéressants pour le physiologiste comme pour le biologiste moléculaire, et le contrôle de la germination est un élément essentiel de la production agricole.

Pour la plante, il s'agit d'une étape très importante du cycle de développement, c'est le départ d'une nouvelle vie et la perpétuation réussie de l'espèce.

Pour le chercheur, il s'agit d'une transition de la vie ralentie vers vie active facile : un modèle original à étudier sur le plan métabolique et biochimique.

Pour l'économie agricole, les graines sont à la fois un élément de compétition économique (industrie des semences) et un constituant fondamental de l'alimentation de l'homme et des animaux.

Quelques clarifications: la graine est un élément caractéristique des Spermaphytes (ou plantes à graines : angiospermes, gymnospermes) qui assure la propagation des espèces. Le terme de graine a une signification botanique bien précise : il s'agit de l'organe résultant de la double fécondation de l'ovule, contenant l'embryon, un tissu de réserve et des téguments.

La propagation des espèces végétales n'est cependant pas assurée par des graines uniquement, on parle plus généralement de semences : il s'agit de l'organe ou de la partie de l'organe que l'on sème : graine, le plus souvent, mais aussi fruit (le caryopse est un fruit), groupe de graines ou de fruits (betterave). Par extension, le terme de semences va aussi englober les tubercules (de pomme de terre), les bulbes et les rhizomes.

La germination : un processus physiologique qui permet à l'embryon contenu dans la graine de donner une jeune plantule.

Conception courante: la germination recouvre la séquence des événements allant de la graine au repos jusqu'à l'obtention d'une plantule autotrophe (viable).

Conception des physiologistes: la germination commence avec l'imbibition de la graine et finit avec la percée des téguments par la radicule ou par l'hypocotyle s'il sort le premier, les étapes ultérieures étant des étapes de croissance.

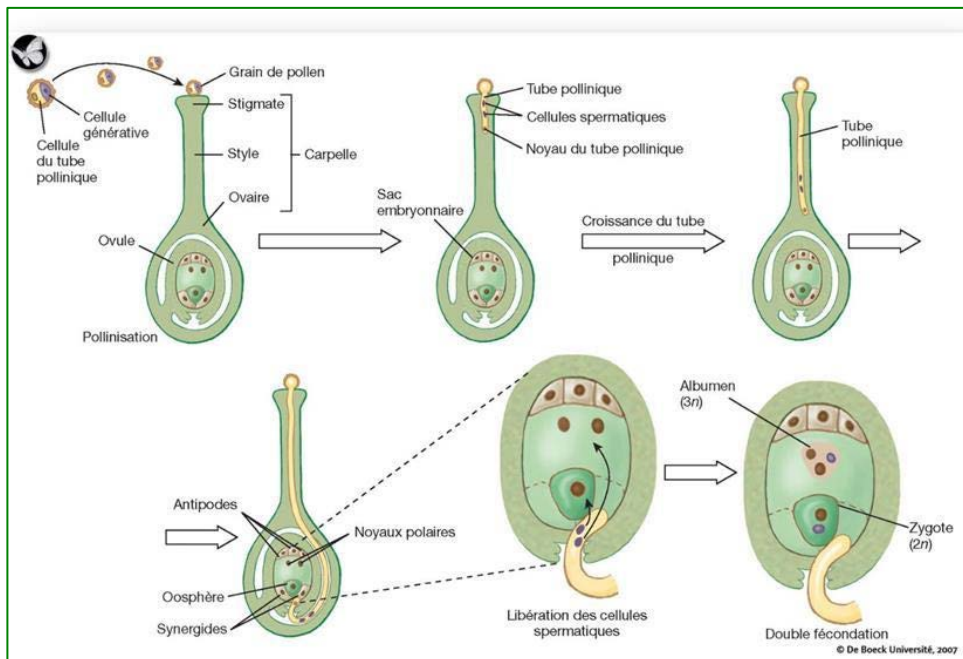
D'une manière générale la séquence d'événements intervenant est la suivante :

1. imbibition des éléments vivants déshydratés et gonflement de la graine.
2. démarrage de la digestion des réserves.
3. grandissement des cellules de la radicule déjà formée dans l'embryon puis prolifération des cellules du méristème racinaire.
4. éclatement des téguments et sortie de la radicule.
5. développement de la partie aérienne et libération des téguments

Conditions de formation et viabilité des graines

La double fécondation, caractéristique des Angiospermes, conduit à la formation de la graine. L'œuf principal donnant l'embryon avec des ébauches de gemmule et de radicule, l'œuf accessoire (initialement triploïde et syncital mais redevenant rapidement diploïde) aboutissant à la formation de l'albumen ou tissu de réserve.

Les téguments de l'ovule donnent pour leur part les téguments de la graine alors que la paroi de l'ovaire donne la chair du fruit.



On distingue généralement :

- Les graines à albumen (céréales)
- Les graines à cotylédon (légumineuses) pour lesquelles les cotylédons ont digéré l'albumen
- Les graines à périspermes peu nombreuses (caféier) dans lesquelles le nucelle tissu entourant l'ovule persiste.

La maturation des semences se produit généralement sur la plante mère : elle est associée à une déshydratation très poussée (les graines ne renferment que 10 % d'eau) ce qui entraîne leur entrée en vie ralentie.

Les graines sont maintenues dans les fruits au niveau de la plante mère ou rapidement dispersées par déhiscence des siliques par exemple. Un niveau important de l'amélioration des plantes cultivées a porté sur le blocage de cette dispersion spontanée afin de préserver la récolte sur pied.

Les graines sont très variables dans leurs dimensions, une des plus volumineuses est celle d'une variété de Palmier (*Lodoicea maldivica*) qui se forme pendant environ 7 ans et pèse environ 10 kg. D'autres graines sont de véritables poussières (orchidées) ou sont de très petite taille sans relation avec la taille finale de l'individu (carotte, tabac).

En résumé, une graine est toujours fondamentalement constituée d'un embryon élément essentiel, d'un tissu de réserve à rôle nourricier et d'enveloppes (téguments ou péricarpe).

Le problème des réserves est crucial mais on connaît encore très mal la façon dont les éléments nutritifs sont transportés des organes assimilateurs (feuilles) vers les organes de réserve (graines) ceci rejoint le problème de la distribution des assimilats.

Il est intéressant de mieux connaître ces phénomènes pour mieux les orienter. Ce qui est assez remarquable c'est que l'information génétique pour certaines protéines ne va pas s'exprimer que dans les tissus de la graine où vont s'accumuler un nombre très limité de protéines, dont la synthèse est très active pendant un temps très court (par exemple, les globulines).

La déshydratation et la nature des téguments souvent durs, sclérifiés, résistants et imperméables peuvent conférer aux graines une résistance tout à fait remarquable aux conditions défavorables : froid – chaud (des semences sèches peuvent survivre après avoir été plongées dans azote liquide vers -180 °C).

La viabilité des semences varie selon les espèces. Elle dépasse souvent 15 ans et peut atteindre une centaine d'années (graines viables retrouvées dans les herbiers).

Exemples de viabilité :

- *Mimosa glomerata* : 221 ans
- *Lupinus articus* : 10 000 ans à l'état gelé dans le Yukon.

A l'opposé, certaines graines ont une viabilité limitée comme le peuplier (*Acer saccharinum*) et meurent en quelques semaines à la température ambiante (les basses températures, l'atmosphère sèche prolongent la survie).

La peroxydation et l'oxydation des acides gras insaturés des lipides provoquent la génération de radicaux libres hautement réactifs, des hydroperoxydes, et des produits secondaires qui accélèrent le vieillissement *via* des dégâts causés aux membranes, aux enzymes et à la chromatine.

Caractéristiques biochimiques des graines

Ces réserves ont une grande importance car elles assurent l'alimentation du jeune embryon en cours de germination, ce qui lui permet d'atteindre l'autotrophie. Même dans de petites graines comme celles de Laitue (*Lactuca sativa*) pesant seulement quelques mg, les réserves peuvent autoriser la croissance de l'embryon pendant plusieurs jours. Chez des graines comme la fève pesant jusqu'à 1 gramme, les réserves sont suffisantes pour plusieurs semaines.

Ces réserves sont concentrées à un niveau jamais atteint dans les autres parties de la plante. Elles sont également importantes pour la nutrition de l'homme et des animaux. Les céréales sont une des bases de l'alimentation humaine. D'autres graines (tournesol, colza, soja, sorgho, féverole, pois, haricot) jouent un rôle économique très important.

Parmi les graines, celles contenant une forte proportion de protéines sont particulièrement recherchées et la recherche s'intéresse de près aux semences protéagineuses par le développement d'espèces comme le pois protéagineux ou la féverole dont les graines sont riches en protéines.

Les protéines des graines:

On définit 4 groupes de protéines basée sur des différences de solubilité ce qui représente une définition opérationnelle.

- Albumine : hydrosolubles
- Globulines : solubles dans des solutions salines
- Glutélines : solubles dans des acides ou bases faibles
- Prolamines : solubles dans alcool

Les céréales contiennent des prolamines : zéine (maïs), hordéine (orge) et des glutélines. Les gluténines du blé interviennent en donnant une structure au pain. Les légumineuses contiennent des globulines : légumine, viciline. Ces protéines sont stockées dans des corps protéiques, (appellation ancienne : grains d'aleurones) généralement répartis

dans tout l'organe de réserve, ou concentrés à la périphérie de la graine chez les céréales par exemple (couche de cellules à aleurone). Ce sont des organelles cellulaires bordés par une membrane qui proviendraient de la transformation de vacuoles avec déshydratation. Ces corps protéiques ont un diamètre de 0,1 à 25 μ . Ils ont une structure variable avec ou sans inclusions (globoïde et cristalloïde).

La composition moyenne des corps protéiques est la suivante :

- Protéines : 70-80 %
- Phytine : 10 %
- Enzymes : Protéase, Phosphatases, glycosidases, ribonucléases.

La principale forme de réserve de phosphate dans les grains de céréales et les graines oléagineuses est constituée par l'acide phytique (myo-inositol hexa phosphate). Le phosphate de l'acide phytique peut constituer jusqu'à 90 % du phosphate total de la graine, dans le cas du maïs notamment. L'acide phytique forme de plus un sel complexe de K, Mg, Ca, Zn, et Fe appelé phytine et qui représente une réserve importante de minéraux dans la graine.

Pour permettre l'utilisation du phosphate et des cations minéraux contenus dans la phytine, celle-ci doit être hydrolysée par des phosphatases spécifiques appelées phytases. L'activité phytase est généralement très faible dans les graines en cours de maturation ou dans les graines sèches. Cette activité augmente considérablement en début de germination.

Les glucides des graines:

L'amidon constitue la forme principale des réserves glucidiques, notamment chez les Graminées dont il forme presque tout l'albumen. Il représente le composé glucidique le plus important de notre régime alimentaire.

Les hémicelluloses constituent les albumens cornés ou indurés type datte (polymères de pentoses et hexoses).

Les sucres solubles sont en petites quantités dans la graine au repos (saccharose chez l'Amande ou le Ricin).

Les lipides des graines :

Si la notion de réserve des graines est souvent associée aux glucides en raison de leur rôle dans l'alimentation humaine, ce sont les lipides qui constituent la forme de réserve la plus répandue, dans 9/10 des plantes. La plus grande partie de ces réserves est constitué d'ester, de glycérol et d'acides oléique et palmitique, présents en gouttelettes de différentes tailles appelées oléosomes.

Biochimie de la germination

Le premier phénomène réside dans l'imbibition de la graine : une phase d'hydratation du protoplasme qui amène la teneur en eau à environ 50 à 60 % du poids frais.

Cette phase d'hydratation permet une reprise des activités métaboliques, qui se manifeste très rapidement dès le début de l'imbibition. La synthèse de nucléotides est

déTECTABLE 15 minutes après le début de l'imbibition chez la graine de laitue. Cette reprise d'activités métaboliques est liée à l'augmentation du niveau d'activité de certaines enzymes.

Les enzymes d'hydrolyse des réserves qui vont donner les métabolites nécessaires à la synthèse des constituants des nouvelles cellules ou utilisés comme substrats respiratoires.

Chaque catégorie de graines possède des enzymes en relation avec son contenu en réserve.

- Réserves amylacées : amylase, maltase, phosphorylase
- Réserves lipidiques : Les triglycérides sont d'abord hydrolysés par des lipases qui donnent du glycérol et des acides gras. Les acides gras sont ensuite oxydés en acétyl CoA puis transformés en glucides par le cycle glyoxylique ou intégrés dans le cycle de KREBS.
- Réserves protéiques : Protéases qui produisent des peptides, des acides aminés utilisés dans la synthèse protéique ou intégrés dans le cycle de Krebs après transamination.

Les enzymes du cycle respiratoire qui vont fournir de l'ATP à partir de substrats libérés par les enzymes d'hydrolyse. L'intensité respiratoire s'accroît très fortement au cours des premiers stades de la germination et s'accompagne parfois d'un dégagement de chaleur.

Mode d'action de ces enzymes :

- Soit ces enzymes sont déjà présentes dans la graine et l'inhibition et la réhydratation des tissus permet leur activité (cas d'enzymes de la respiration).
- Soit encore on peut assister à une activation d'enzymes préexistantes sous une forme inactive (action de protéases par exemple). Cependant, dans le cas le plus fréquent, les enzymes sont synthétisées *de novo* dès le début de la germination.

Physiologie de la germination : les fondamentaux

La germination de la graine dépend à la fois des conditions externes liées aux facteurs de l'environnement, et des conditions internes liées à l'état physiologique et aux caractéristiques de la graine.

Conditions externes :

- Eau : nécessaire à l'hydratation de la graine et à la reprise des activités métaboliques (trop d'eau empêche cependant la germination : asphyxie).
- O₂ : nécessaire à la respiration.
- Température : convenable pour les activités métaboliques.
- Lumière : 3 catégories : germination induite par la lumière, germination inhibée par la lumière, germination indifférente.

Conditions internes :

Lorsque des graines arrivées à maturité sont placées dans des conditions optimales de température, d'humidité et d'oxygénation pour leur croissance et qu'elles ne germent pas, plusieurs types de causes sont à envisager : la dormance de l'embryon ou les inhibitions de germination.

On peut d'ailleurs souligner que les caractéristiques de germination des espèces cultivées résultent d'une sélection très poussée qui a contribué à éliminer un grand nombre de mécanismes de contrôles naturels et qui conduit à une germination rapide et uniforme nécessaire dans le cas des plantes cultivées.

L'Inhibition de germination concerne tout phénomène qui s'oppose à la germination d'un embryon non dormant. Elle peut être de divers types.

Inhibition tégumentaire :

Les téguments assurent normalement la protection des graines mais dans de nombreux cas ils peuvent empêcher la germination en jouant un rôle de :

- Barrière physique = résistance mécanique, imperméabilité à l'eau
- Barrière chimique = piégeage de l'oxygène par des composés phénoliques, présence d'inhibiteurs de germination dans les téguments.

Certaines graines ne germent qu'après de très fortes pluies et l'on pense que c'est un lessivage d'inhibiteurs de germination qui autorise le phénomène au-delà d'une simple réhydratation.

Dans les différents cas évoqués on peut démontrer effectivement le rôle des téguments en réalisant leur ablation qui permet la germination.

Dans les conditions naturelles le gel de l'hiver (craquèlement, putréfaction partielle), les pluies peuvent altérer l'intégrité des téguments. Cette inhibition par les téguments joue un rôle adaptatif car dans les conditions naturelles elle demande une période correspondant à l'hiver pour être levée et diffère ainsi d'une germination précoce pouvant se produire dans de mauvaises conditions.

Au laboratoire ou lors de la réalisation de semis par des horticulteurs ou pépiniéristes différents traitements sont utilisés pour fragiliser ou altérer les téguments :

- Abrasions : papier de verre
- Incisions : scarification
- Traitements chimiques : H_2O_2 , solvants, SO_4H_2 dilué.

Dormance de l'embryon :

Par définition, on dit que la dormance est d'origine embryonnaire quand la graine étant débarrassée de ses téguments et placée dans des conditions convenables ne germe pas. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte de la semence on parle alors de dormance I.

Dans d'autre cas l'embryon des semences fraîchement récoltées est parfaitement capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de différents facteurs externes (T° , privation d' O_2), on parle de dormance II.

Différents traitements peuvent lever la dormance au plan expérimental :

- Traitement par le froid : le traitement généralement utilisé, la stratification, consiste à placer les graines dans du sable en couches superposées à basses températures. Dans les conditions naturelles c'est le froid de l'hiver qui réalise la levée de dormance
- Traitement par la lumière : avec le froid, la lumière est le facteur de l'environnement actif, avec une portée cependant moins importante que le froid (voir remarque précédente).

Contrôle hormonal de la levée de dormance des semences

Dans le cas particulier des levées de dormance par le froid, il semble que l'on soit en présence d'un équilibre entre l'acide abscissique (ABA) et gibbérelline analogue à celui décrit pour la dormance des bourgeons. L'acide abscissique semble être l'inhibiteur fondamental, il est présent dans de nombreuses graines et il présente un puissant effet inhibiteur sur la germination quand il est apporté de façon exogène. Par ailleurs, il existe des corrélations entre degré de dormance d'espèces voisines dans un même genre et la teneur en acide abscissique.

Le froid pourrait intervenir en diminuant le taux d'ABA des graines. De plus, des stimulateurs comme l'acide gibbérellique semblent impliqués dans la germination. Ce point est confirmé par l'inaptitude de nombreux embryons dormants de céréales à synthétiser des gibbérellines, les potentialités de synthèse reprenant avec la levée de dormance. D'autre part, l'acide gibbérellique exogène favorise la germination des graines dormantes chez le noisetier, et le froid a un effet favorable chez ce même végétal dans la production d'acide gibbérellique.

On retrouve donc le même type de mécanisme que celui déjà mentionné pour la dormance des bourgeons un équilibre entre inhibiteurs et stimulateurs qui serait sous la dépendance des conditions de l'environnement. Enfin, le rôle de l'acide gibbérellique est clairement démontré par le comportement de mutants déficients en GA qui ne germent pas sans apport exogène de GA.

Au-delà de variations dans l'équilibre entre hormones stimulatrices et inhibitrices pour le contrôle de la dormance, on a noté des changements de sensibilité aux hormones chez, par exemple, l'embryon de tournesol.

Il s'agit ici de variations se produisant au cours du développement (à distinguer des mutants de sensibilité qui induisent des variations irréversibles). Ainsi, la sensibilité à GA décroîtrait lors de l'entrée en dormance et augmenterait dans les conditions favorisant la levée de dormance (ce qui entraîne des réponses variables pour une même concentration en GA).

Parallèlement des mutants de synthèse de l'ABA n'entrent pas en dormance (mutants vivipares de maïs germent sur le pied mère, mutants de tomates rin avec des graines germant dans le fruit...). Un autre argument en faveur du rôle de l'ABA est la suppression de l'entrée en dormance par la Fluridone inhibiteur de synthèse de l'ABA.

D'une façon générale, le développement de la graine et la germination sont 2 processus opposés – 2 stades physiologiques qui présentent des évolutions inverses et sont

séparées par une période de vie ralentie pendant laquelle la graine est fortement déshydratée.

L'ABA est un signal de la mise en place des réserves protéiques des graines : hélianthine, cruciférine et de polypeptides de protection contre la dessiccation (dehydrines). L'ABA intervient donc à plusieurs niveaux : il joue un rôle stimulateur dans les étapes de formation et de déshydratation de la graine et inhibe de façon générale, la germination précoce qui est ensuite empêchée par la dessiccation.

Son taux peut ensuite décroître pendant la période de conservation. Ainsi l'ABA n'est pas à son maximum dans les graines dormantes où il a au préalable fixé la dormance.

Des équilibres multiples entre teneurs en hormones, variations de sensibilité aux hormones, taux de facteurs régulateurs peuvent expliquer les différents comportements observés au niveau de la dormance.

Les phases de la germination

La phase 1

La première phase ou phase d'imbibition est un phénomène d'entrée rapide et passive d'eau. Elle se déroule même si la graine n'est pas viable. Cette entrée d'eau est accompagnée d'une augmentation de la consommation d'oxygène attribuée à l'activation des enzymes mitochondriales.

La phase 2

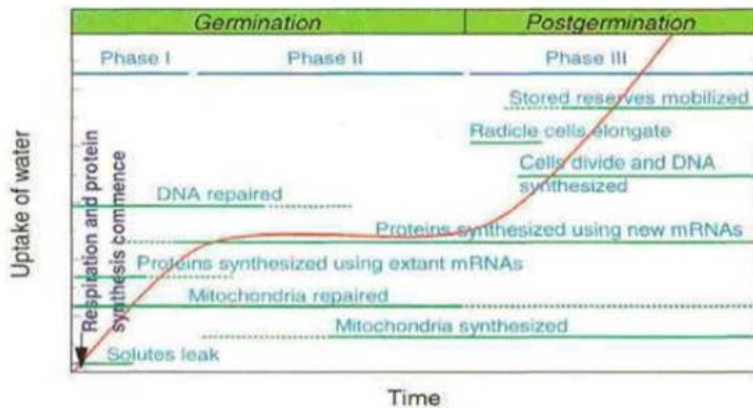
La deuxième phase est la phase de germination au sens strict. Elle est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau ; l'hydratation des tissus et des enzymes est totale. La consommation en oxygène est stable. Durant cette phase, il y a reprise de la respiration et des activités métaboliques. La présence d'eau et d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques.

L'eau rend mobiles et actives les phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine. C'est le cas des gibbérellines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases (telles que les α -amylases, les nucléases ou les protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire.

Les α -amylases hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire. Les nucléases permettent la libération d'acides nucléiques impliqués dans la formation des cytokinines, hormones qui stimulent la division cellulaire. Les protéases lysent les réserves protéiques qui favorisent la formation de phytohormones telles que l'auxine responsable de l'élongation des cellules. La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules.

La phase 3

La troisième phase ou phase de croissance post-germinative est caractérisée à nouveau par une entrée d'eau et une augmentation importante de la respiration. La consommation de l'oxygène serait due aux enzymes néo synthétisées (Anzala, 2006).

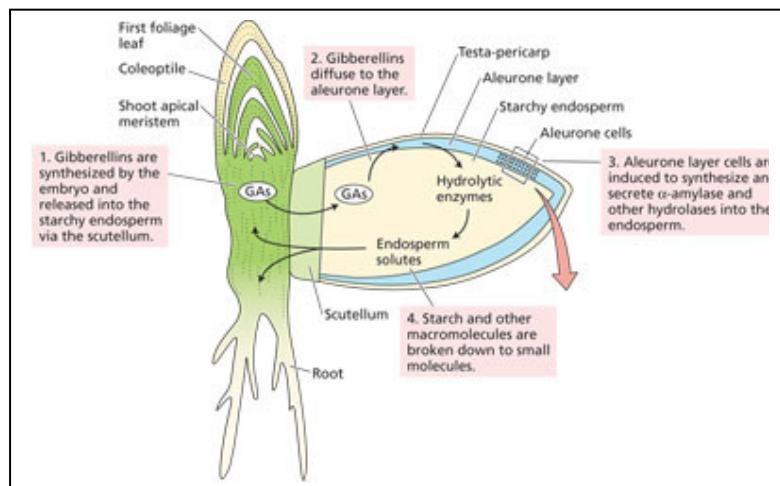


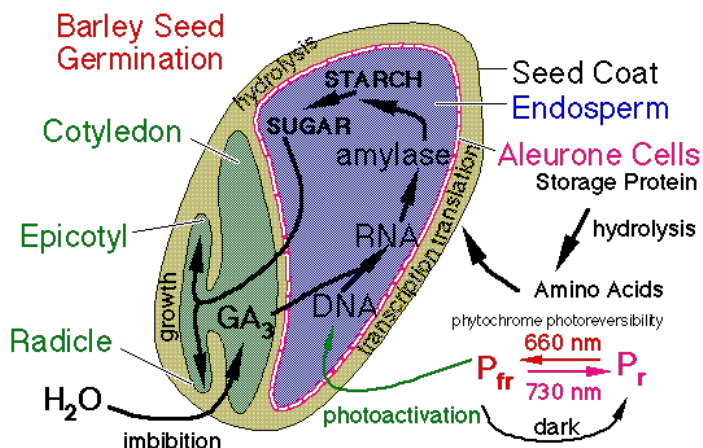
Les Amylases : enzymes clefs de la germination

L' α -amylase (ou diastase ou takadiastase) fut la toute première enzyme qui fut découverte en 1833 par Anselme Payen et Jean-François Persoz. (Payen et Persoz, « Mémoire sur la diastase, les principaux produits de ses réactions et leurs applications aux arts industriels », *Annales de chimie et de physique*, 2^e série, t. 53, 1833, p. 73-92)

L' α -amylase (EC 3.2.1.1) est une enzyme digestive classée comme glycosidase (enzyme qui hydrolyse les polysaccharides). C'est un constituant du suc pancréatique et de la salive, requis pour le catabolisme des glucides à longue chaîne (comme l'amidon) en unités plus petites.

Elle est également synthétisée dans les fruits de beaucoup de plantes durant leur maturation (c'est ce qui rend leur goût si doux et sucré), et aussi pendant la **germination des graines**. L'amylase est entre autres responsable de la production de malt.





L'enzyme alpha-amylase est présente dans l'embryon ou germe de grains sains de blé. Dès que la germination commence, l'embryon et les couches enveloppant l'endosperme amylacé produisent l'enzyme à un rythme accéléré.

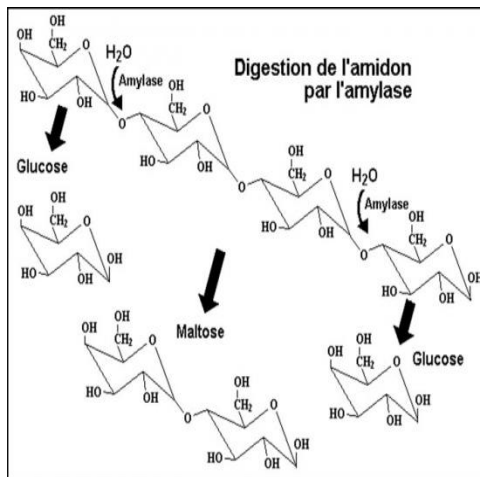
Un grain complètement germé contient des milliers de fois plus d'enzymes les grains qui sont au stade précoce de germination.

L'alpha-amylase transforme l'amidon en sucre dans le grain en germination, et de même liquéfie les granules d'amidon dans la farine de blé lorsqu'on la mélange à de l'eau pour en faire de la pâte à pains.

Les amylases catalysent l'hydrolyse de l'amidon, polymère du glucose. La molécule d'amidon est en effet constituée de molécules de glucose enchaînées les unes aux autres. Ce corps représente la principale forme de réserve des glucides produits par les plantes au cours de la photosynthèse. On le trouve dans les graines et dans les organes de réserve comme les tubercules de pommes de terre.

La mobilisation de cette réserve lors de la reprise d'activité est assurée par les amylases. Ces enzymes sont également présentes dans les sucs digestifs des consommateurs animaux ; par exemple, chez l'homme, dans la salive, le suc pancréatique et le suc intestinal.

L'alpha amylase coupe la molécule d'amidon à l'intérieur des chaînes; la beta-amylase coupe aux extrémités ne libérant des molécules de maltose, dimère du glucose.



L' α -amylase brise les liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine pour ultimement donner des molécules de maltose (disaccharides de α -glucose).

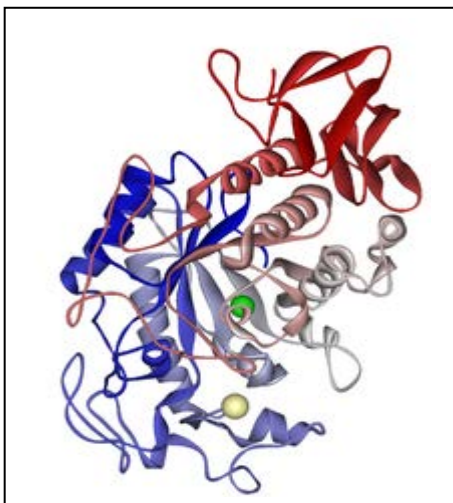
Elle possède un site de liaison à l'émail donc participe à l'élaboration de la pellicule acquise exogène. Elle se lie avec affinité au *S. viridans* ce qui conduit à sa clairance ou à son adhésion selon que l'amylase est en solution ou adsorbée à la surface dentaire. L'amylase liée à une bactérie

conserve environ 50 % de son activité enzymatique. La bactérie liée à l'amylase peut donc fermenter l'acide glutamique que celle-ci produit en acide organique.

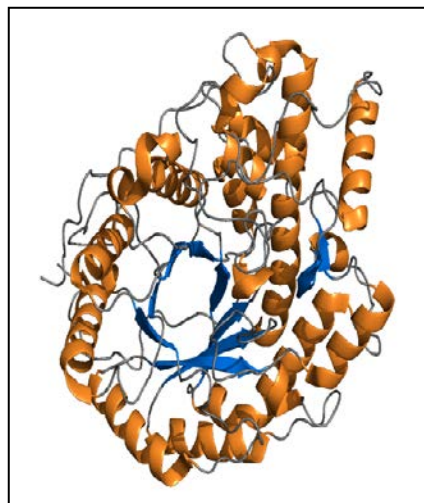
L'enzyme peut être détectée en la mélangeant à son substrat pour obtenir un ou plusieurs produits. Dans ce cas, cette enzyme possède un substrat qui est l'amidon. Ces produits seront le maltose, diholoside réducteur qui pourra être détecté grâce à la liqueur de Fehling.

Les amylases catalysent l'hydrolyse de l'amidon, polymère du glucose. La molécule d'amidon est en effet constituée de molécules de glucose enchaînées les unes aux autres. Ce corps représente la principale forme de réserve des glucides produits par les plantes au cours de la photosynthèse.

L' α -amylase pancréatique

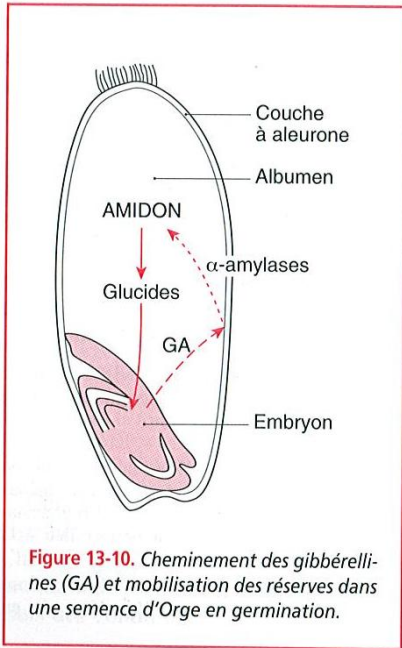


La β -amylase de l'orge



Amylases et gibbérellines

Les hypothèses concernant le mode d'action des gibbérellines sur la croissance découlent d'expériences réalisées sur les grains d'orge. Ces caryopses sont constitués par un embryon à un cotylédon (le scutellum) et par l'albumen ; l'ensemble est entouré

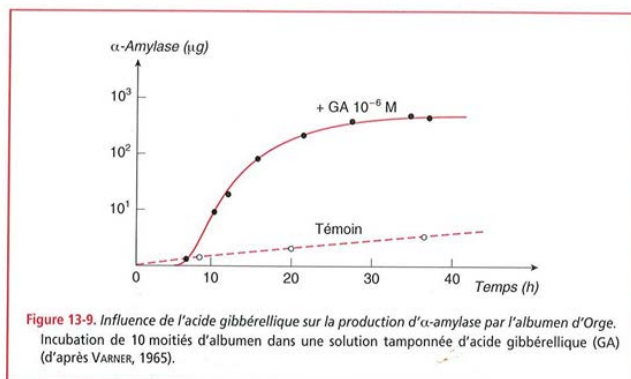


de trois assises de cellules riches en grains d'aleurone et des enveloppes (téguments et péricarpe soudés).

Durant la germination, l'amidon de l'albumen est hydrolysé en sucres solubles réducteurs sous l'action de l' α -amylase, qui est une enzyme localisée dans la « couche à aleurone » (travaux de Haberland, 1890). Cependant, si un grain est coupé en deux transversalement, seule la moitié contenant l'embryon produit des sucres réducteurs à partir de l'amidon ; l'embryon est nécessaire à la production d' α -amylase par la « couche à aleurone ».

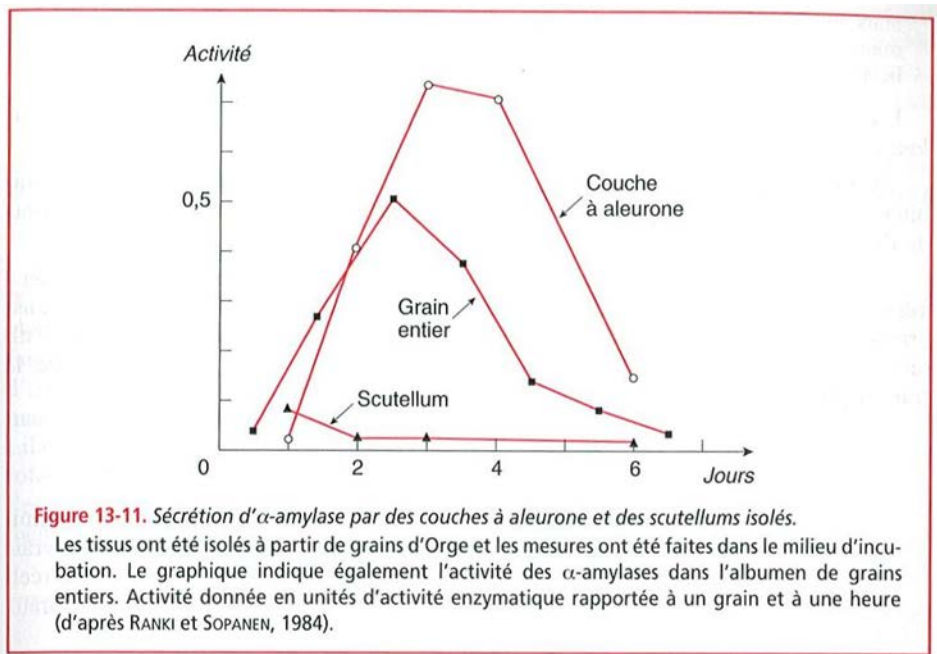
Les gibbérellines seraient le principe inducteur, car en solution elles induisent l'hydrolyse de l'amidon (donc la synthèse d' α -amylase) dans la partie du grain dépourvue d'embryon (Yomo et Paleg, 1960).

Les gibbérellines, synthétisées, ou libérées à partir de composés inactifs après l'imbibition de l'embryon, induisent une néosynthèse d' α -amylase et non pas une activation de molécules enzymatiques préexistantes. Cette néosynthèse s'étend à l'ensemble des enzymes hydrolytiques : protéases, nucléases.



Pour expliquer l'influence des gibbérellines sur la croissance, plusieurs hypothèses ont été proposées :

- stimulation de la synthèse des protéases ce qui entraîne une augmentation de la teneur en acides aminés (en particulier le tryptophane, substance mère de l'AIA) ;
- stimulation de la synthèse d'enzymes hydrolytiques telles que les cellulases dont l'action pourrait provoquer une augmentation de la plasticité de la membrane ;
- stimulation de la synthèse d'enzymes hydrolytiques, ce qui conduit à une hydrolyse importante des réserves, donc à une augmentation de la succion des cellules et par conséquent à un appel d'eau.

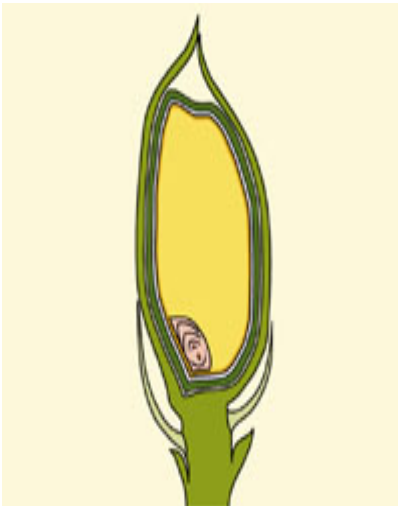


René Heller, Robert Esnault, Claude Lance 6e édition de l'abrégé DUNOD er et 2e cycles Physiologie végétale 2. Développement

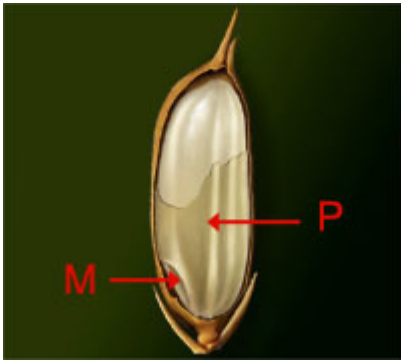
La germination du riz



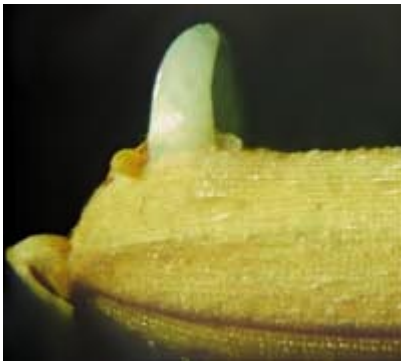
Une semence de riz est un grain de riz enfermé dans des pièces florales : deux glumes à la base, très petites et deux glumelles s'imbriquant l'une dans l'autre protégeant ainsi entièrement le grain. Ce grain de riz ainsi enveloppé est dénommé "paddy". Imprégné d'eau, le paddy sera le siège de réactions produisant de l'oxygène indispensable à la respiration de la plantule qui se développera. Chez certaines variétés, une "dormance" peut exister, c'est-à-dire que le paddy est incapable de germer dès sa maturité, cette dormance peut durer jusqu'à onze semaines.



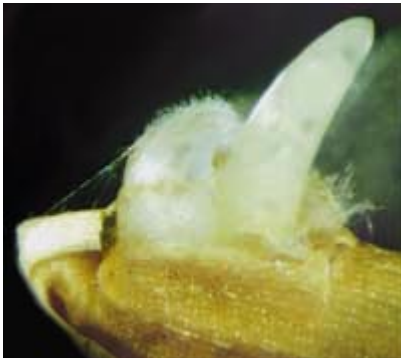
Situé à la base et au flanc du caryopse (fruit des céréales), un embryon est surmonté par l'albumen. L'albumen est appelé à fournir à la plantule l'amidon, c'est-à-dire l'énergie. Il est entouré d'une couche de cellules à aleurones fournissant pour leur part les matières protéiques utiles à son développement. Le tout est entouré d'un tégument (le son) qui est le péricarpe. C'est le péricarpe qui donne la coloration du grain. Viennent ensuite les glumelles : une glumelle inférieure (la lemma) et une glumelle supérieure (la paléa), sertie sur ses côtés, par la lemma, puis les glumes (une glume supérieure et une glume inférieure).



Situé à la base et au flanc du caryopse, ici décortiqué en partie, le site occupé par l'embryon est repérable par le méplat (M) qu'il forme à cet endroit. La masse de l'albumen le surmonte. Le tout est entouré du péricarpe (P) décortiqué ici en partie : c'est lui qui donne la coloration du grain. Viennent ensuite les glumelles et à la base les glumes.



La germination commence par le gonflement de la graine qui s'imbibe d'eau. L'imbibition est suivie de l'apparition d'un coléoptile issu de l'embryon. Ce coléoptile a déjà une structure de feuille miniature et recouvre une "plumule", c'est-à-dire la partie de l'embryon qui contient les rudiments de l'appareil aérien.



Une radicule se développe ensuite (ici, à gauche du coléoptile) et s'oriente dans le sens opposé. Elle a traversé le coléorhize qui la protégeait au sein de l'embryon. Elle est appelée "racine séminale" et se couvre immédiatement d'une pilosité absorbante.



Sous l'action de l'eau et à l'obscurité, c'est la tigelle qui se développe le plus rapidement, comme si la plantule cherchait déjà à exposer son appareil aérien à l'air et à la lumière.



A la lumière, c'est la racine séminale qui se développe le plus rapidement. L'appareil aérien étant éclairé "ne cherche plus la lumière".



La racine séminale se ramifie mais elle est destinée à disparaître très rapidement pour être remplacée par les racines provenant des nœuds qui s'empilent au collet du plant en formant ainsi une minuscule tige court-nouée (entre-nœuds extrêmement courts). Les racines formées par ces nœuds sont dites adventives ou nodales. Ce sont elles qui formeront l'enracinement fasciculé de la touffe de riz.

III. Le concept de totipotence de la cellule végétale

Multiplication végétative et apports des cultures in vitro.
Éléments de programmation morphogénétique

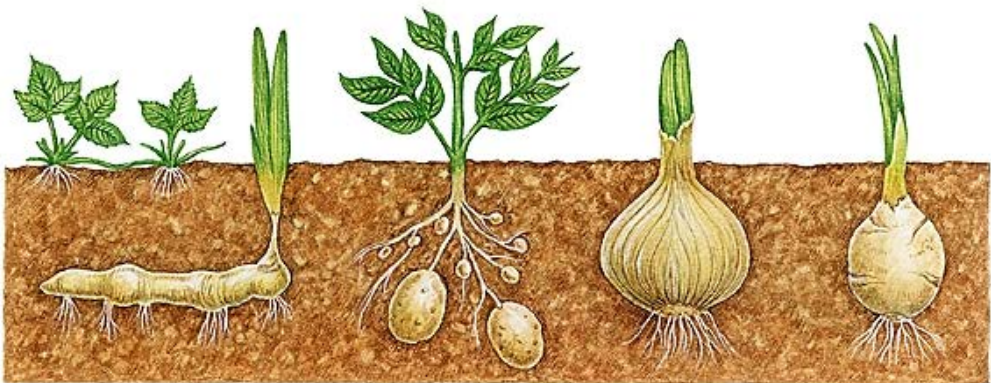
La multiplication végétative in vitro

C'est la capacité de ces organismes à réaliser une Reproduction asexuée et donc de produire à partir de ses éléments constitutifs (cellules, tissus, organes...) de nouveaux individus non issus de la Fécondation et sans support des organes de reproduction. C'est donc un mode de reproduction uniparentale.

Quelles stratégies les plantes supérieures mettent-elles en œuvre pour contourner la reproduction sexuée ?

Au niveau de la Fleur : formes dégradées de la Reproduction sexuée.

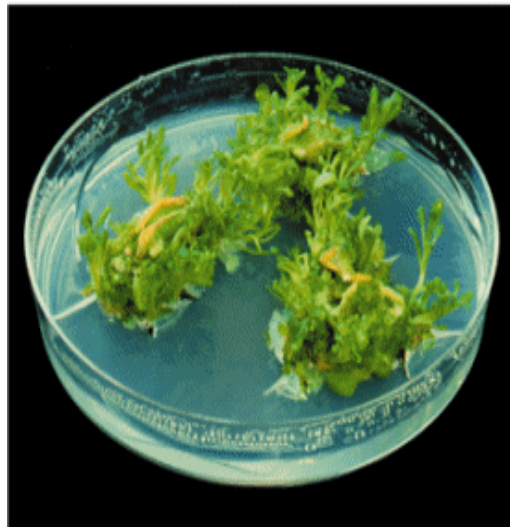
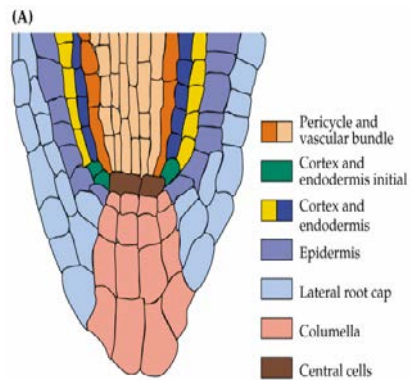
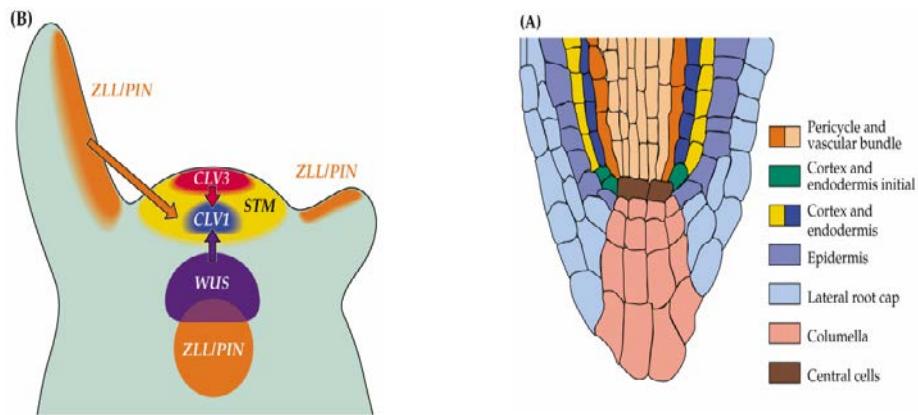
- Parthénogénèses ou apomixie : oosphère non fécondé ou cellules du Nucelle qui subit des mitoses et donnent un embryon.
- Polyembryonie par apogamie : embryon surnuméraire issu de la synergide et embryons adventifs issus des cellules du Nucelle.
- Apoflorie ou formation de bourgeons végétatifs ou bulbilles à la place des organes reproducteurs. A partir des cellules, tissus et organes végétatifs
- Multiplication végétative vraie ou naturelle : fragmentation et enracinement des tiges aériennes ou souterraines : tallage, rhizomes, bulbes, tubercules par des organes spécialisés types stolons et bulbilles.
- Multiplication Végétative artificielle ou procédés horticoles traditionnels : bouturage, marcottage, greffage...



Quels sont les avantages et les inconvénients de la multiplication végétative *in vitro* ?

C'est un processus qui permet une multiplication rapide, en masse, avec des gains de temps et d'espace et l'obtention des Plantes avec les mêmes caractéristiques. C'est un procédé qui permet la « guérison » des végétaux malades et l'obtention de plantes saines et conformes à celles de l'origine.

Elle permet un raccourcissement des cycles de sélection et l'obtention accélérée de variétés agronomiques et horticoles intéressantes : diminution des coûts de production, stockage des pieds-mères sur des petites surfaces, à l'état sain, à l'abri des contaminations et possibilité de cryoconservation des échantillons précieux.

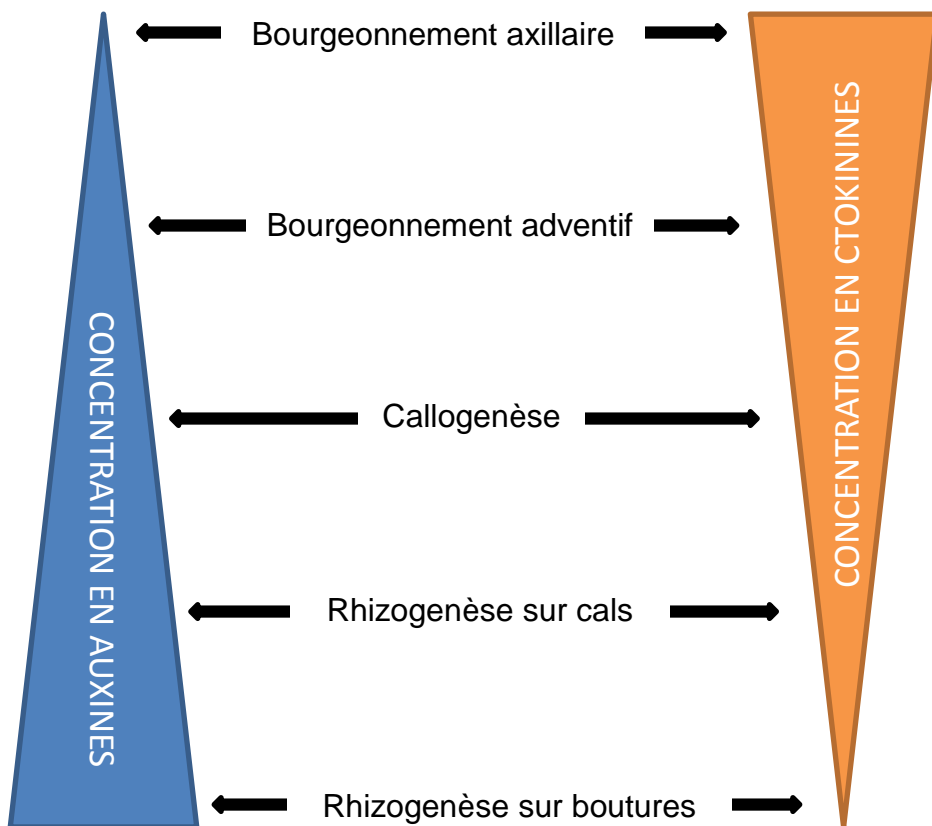


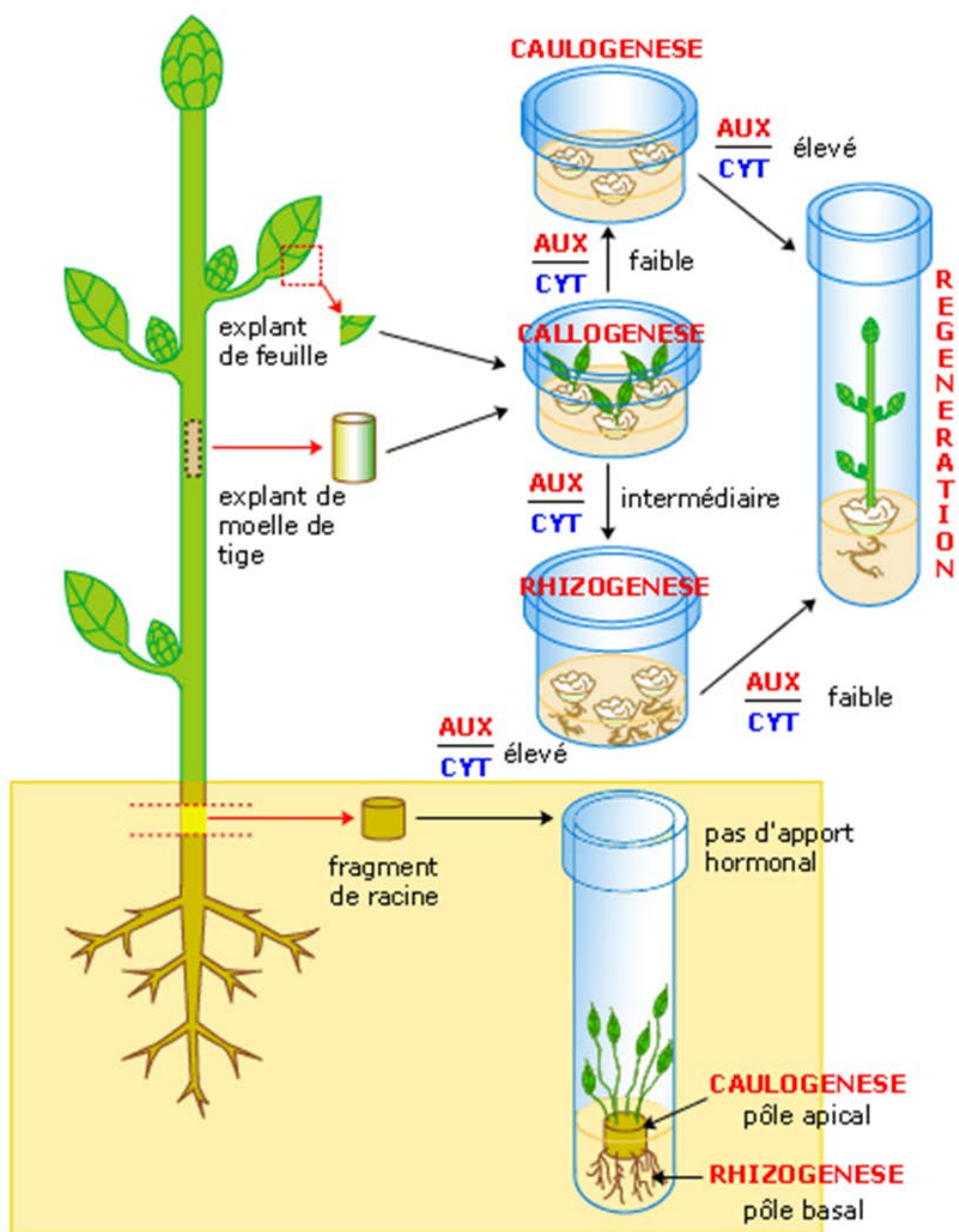
Toutefois, la multiplication végétative *in vitro* pose un certain nombre de problèmes :

- La régénération des plantes à partir des colonies cellulaires (cals) n'est maîtrisée que pour un certain nombre d'espèces.
- La stabilité génétique des cultures n'est pas garantie et cette variabilité somaclonale doit être maîtrisée.
- Les risques d'attaque parasites sur des clones génétiquement uniformes sont à évaluer.

Les techniques de la culture *in vitro* des tissus et des cellules végétales ont permis l'étude des phénomènes d'organogenèse (callogenèse, caulogenèse, rhizogenèse) et d'embryogenèse somatique (induction des deux structures méristématiques), permettant la régénération d'une plante normalement constituée sans la phase reproductive).

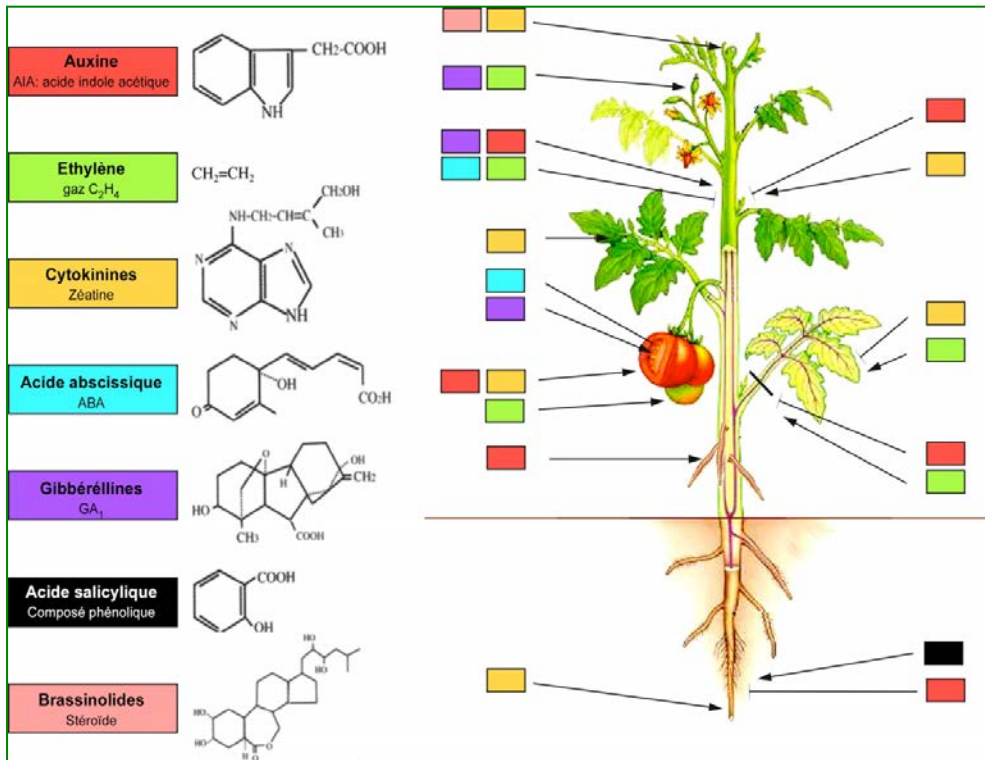
L'organogenèse est modulée par les taux relatifs d'auxines et de cytokinines, *in planta* comme *in vitro*.





IV. Les bases de l'hormonologie végétale

Les régulateurs de croissance (Hormones ou Phytohormones) sont des signaux internes, vecteurs des informations morphogénétiques, impliqués dans les problèmes de l'édification du végétal et contrôlent donc les importantes étapes du développement de la plante, en particulier les processus de la prolifération (mitose) et de la différenciation.

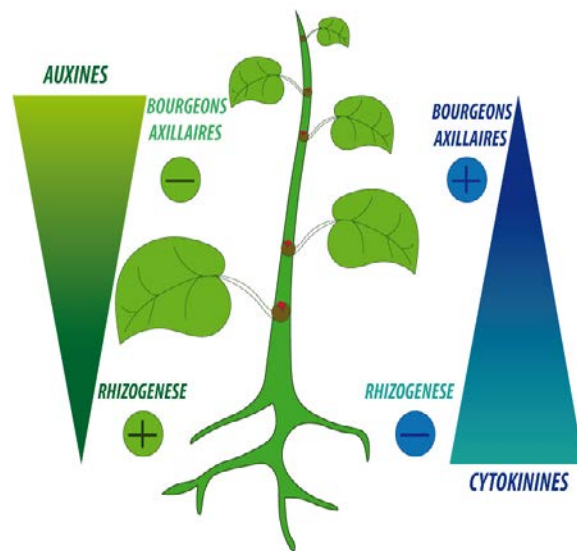


Une hormone végétale est une molécule endogène, oligodynamique et vectrice d'une information qu'elle apporte à une cellule cible sensible à son action, et dont elle influence le fonctionnement. Par rapport aux hormones animales, les hormones végétales se distinguent par l'absence de tissus spécialisés dans leur production, et par le fait que l'information déclenchant l'émission de l'hormone est souvent directement issue de l'environnement (photopériode, froid, stress biotique ou abiotique, etc.) et non, comme chez l'animal, par une information issue de l'organisme lui-même.

Chez les végétaux, les hormones sont soit véhiculées par la sève, soit elles sont diffusées entre les cellules dans la paroi ou vers l'extérieur, avec émissions éventuelles dans

l'atmosphère sous forme gazeuse (éthylène par exemple) ou dans la rhizosphère dans le sol. L'organe émetteur agit ainsi à distance sur l'ensemble des organes cible de l'organisme ou d'organismes voisins de la même espèce, voire d'organismes symbiotes dont les récepteurs sont activés au contact des hormones spécifiques (interactions durables).

Les hormones végétales, plus rigoureusement appelées phytohormones ou régulateurs de croissance ont souvent comme fonction d'assurer la croissance de la plante et ou sa morphogenèse. C'est le cas notamment de l'auxine qui contribue à la formation des organes de la plante (les racines par exemple) et à sa croissance mais intervient aussi dans les phénomènes de tropisme.



Elles se distinguent des hormones animales en plusieurs points :

- Ce ne sont pas des molécules protéiques et peuvent aussi se présenter comme des substances gazeuses comme l'éthylène.
- Leur sécrétion n'est pas assurée par des organes spécifiques de la plante (tout juste existe-t-il des zones de synthèse privilégiées).
- Leur effet varie en fonction de leur concentration (ex : à faible concentration 10⁻¹⁰ g/mL, l'auxine a un effet discret positif sur la croissance racinaire. À de plus fortes concentrations, 10⁻⁸ g/mL, elle inhibe l'élongation et induit la rhizogenèse).
- Elles agissent rarement seules : leurs effets résultent bien souvent d'une action coordonnée de plusieurs hormones (ex : stimulation de la division

cellulaire grâce à l'action conjuguée de l'auxine et des cytokinines) ou d'effets antagonistes comme la levée de la dormance par l'équilibre acide abscissique et l'acide gibbérellique...

Hormonologie végétale : l'auxine

L'essentiel sur l'auxine

En physiologie végétale, l'auxine est une hormone de croissance qui est indispensable au développement des plantes. Le terme d'auxine a été étendu à un ensemble de substances naturelles aux propriétés analogues ainsi qu'à des hormones de synthèse. Le terme a été formé sur le grec *auxein*, croître.

Histoire. La découverte de l'auxine avait été pressentie par Darwin en 1881 en observant la courbure des coléoptiles d'avoine vers la lumière (phototropisme). En 1910, Boysen et Jensen, en 1919 Paal puis, en 1925, Soding réalisent des expériences complémentaires. La molécule d'auxine naturelle fut finalement découverte en 1926 par Went. Elle fut la seconde hormone végétale à être caractérisée, succédant ainsi aux gibbérellines.

Biosynthèse. Sur le plan chimique, c'est l'acide indole 3-acétique ou AIA, un acide faible qui peut facilement se dissocier. L'auxine est synthétisée majoritairement à partir du tryptophane mais aussi à partir du chorismate à l'extrémité des tiges (dans l'apex), et dans le méristème des bourgeons terminaux.

Effets. Les rôles attribués à l'auxine sont nombreux. Son action dépend très fortement à la fois de sa concentration et du tissu sur lequel elle agit. Par exemple, une même concentration peut inhiber le développement d'un bourgeon alors qu'elle favorisera l'élongation d'une tige. Selon les plantes, une même concentration sur un même organe peut entraîner des conséquences différentes. Par exemple, l'auxine stimule la croissance du limbe des monocotylédones alors qu'elle inhibe celle des dicotylédones. L'auxine a aussi une action cambioestimulante.

Auxine et élongation cellulaire

L'auxine favorise la croissance en longueur en agissant sur l'élongation cellulaire ou auxèse; ce mode d'action est relativement bien connu. L'auxine ne pénètre pas dans les cellules mais agit via une Protéine G, qui par l'activation de l'adénylate cyclase fait augmenter la concentration intracellulaire en ions Ca^{2+} et en AMPc, ce qui active une cascade de réactions (notamment celle des MAP, *Mitogen Activating Protein*) stimulant la division cellulaire mais aussi l'activation et la production de pompes à protons. Cette pompe expulse des protons dans le milieu extracellulaire.

Cette activation a pour conséquence de déstabiliser la paroi, d'activer des enzymes lysant cette paroi de plus l'efflux de ces protons favorise l'entrée d'ions potassium qui vont, par un mécanisme d'osmose, induire l'entrée d'eau dans la cellule, d'où une augmentation de la pression de turgescence.

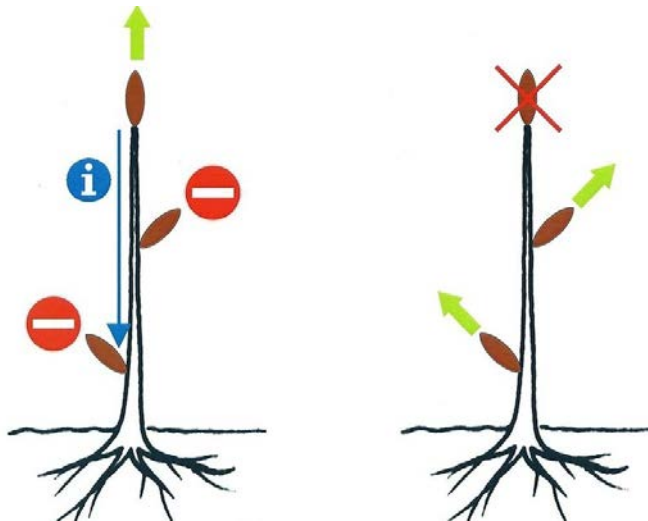
Tous ces facteurs concourent à la croissance lorsque la pression de la turgescence dépasse l'élasticité de la paroi végétale.

Auxine et phototropisme

L'auxine joue également un rôle dans le phototropisme positif des tiges. Un éclairage dissymétrique de la tige entraîne une migration latérale de l'auxine du côté éclairé vers le côté sombre. Celle-ci favorisant la croissance, le côté sombre grandit plus vite et la tige se tourne alors vers la lumière, d'où le qualificatif de phototropisme positif.

Auxine et contrôle de la dominance apicale

En synergie avec les cytokinines, elle participe à la néoformation des bourgeons. En revanche elle s'oppose à leur débourrement : c'est le principe de la dominance apicale. Ainsi, le bourgeon apical profite de sa position haute pour dominer les bourgeons latéraux. Il synthétise de l'auxine (apex) qu'il évacue via le phloème. Les bourgeons sous-jacents subissent alors des concentrations en auxine trop importantes qui sont inhibitrices.



Auxine et formation des racines latérales

L'auxine a aussi des rôles dans l'organogenèse. Elle agit aussi à forte concentration (de l'ordre de 10^{-5} g/L) sur la rhizogenèse, favorisant l'apparition de racines sur les boutures. Une forte concentration en auxine permet l'activation des gènes impliqués dans l'initiation des méristèmes racinaires latéraux. Toutefois, si la teneur en auxine reste forte, la croissance racinaire sera ralentie. Ainsi, une faible concentration en auxine favorise l'élongation d'une racine alors qu'une plus forte concentration inhibe cette croissance et favorise cette fois la rhizogenèse.

Auxine et développement des fruits

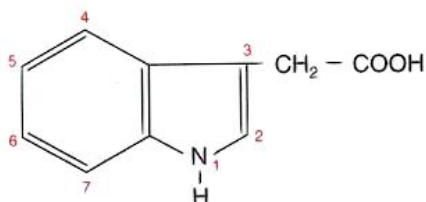
Si on retire une partie des akènes en développement alors le fruit se développe mal. L'ajout d'auxine rétablit un développement normal du fruit. Exemple : la fraise.

Utilisations horticoles de l'auxine

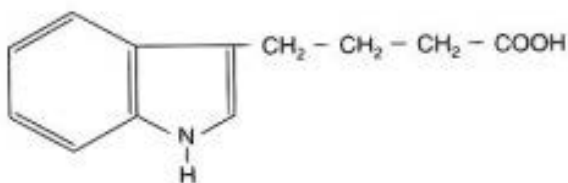
L'auxine de synthèse la plus utilisée est l'acide naphthalène acétique (ANA). L'utilisation principale est le traitement local des boutures. L'auxine a un rôle fondamental dans les biotechnologies végétales, elle permet par exemple de faire se développer les fruits sans fécondation (comme la banane qui est un fruit parthénocarpique).

La nature chimique de l'auxine

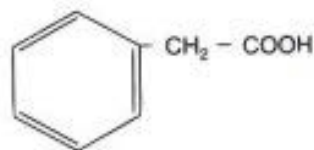
Au sens strict, l'auxine est de l'acide indole-acétique (AIA). Le terme d'auxines a ensuite été élargi à un ensemble de substances possédant des propriétés physiologiques voisines et une conformation chimique apparentée



Acide indole-3-acétique



Acide indole-butyrique



Acide phénylacétique

Synthèse et transport de l'auxine

La synthèse de l'auxine s'effectue dans les apex des tiges, dans les méristèmes et jeunes feuilles des bourgeons terminaux. Ceux-ci reçoivent les précurseurs, comme le tryptophane, qui eux sont fabriqués dans les feuilles plus âgées, à la lumière. Pour le coléoptile, la synthèse a lieu aussi dans l'apex (mais ce n'est pas un méristème à proprement parler), les précurseurs (tryptamine) ayant été synthétisés par la plante-mère et mis en réserve. Les méristèmes intercalaires sont également des lieux de synthèse très actifs.

La migration (à distance du lieu de synthèse) est primordiale dans le cas de l'auxine : synthétisée dans les apex et les entre-nœuds des tiges et des rameaux, cette hormone doit être distribuée dans tous les tissus, y compris les racines, où elle s'accumule. L'auxine se déplace préférentiellement dans le phloème. Sa conduction est polarisée : elle s'effectue plus facilement de l'apex vers la base de l'organe.

Ce transport polarisé de l'auxine :

- a des conséquences sur l'organogenèse: il y a différenciation de racines à la base et de bourgeons à l'apex, en relation avec l'action rhizogène de l'auxine à forte dose et avec l'action de l'auxine à faible dose sur la différenciation des bourgeons
- permet de comprendre les tropismes: par exemple, dans le contexte du phototropisme, la lumière provoque (par un mécanisme que l'on ignore) une migration d'auxine depuis la face éclairée vers la face sombre, engendrant ainsi un allongement de la face sombre lié à l'effet de l'auxine à forte dose sur l'élongation cellulaire.

Auxine et élongation cellulaire

L'auxine est la principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules. Cet effet, qui dépend des concentrations intracellulaires d'auxine et de la nature des organes, s'exerce sur des cellules jeunes en cours d'élongation, au moment où la paroi est extensible. On sait que l'élongation cellulaire est un processus complexe qui fait intervenir une absorption d'eau, l'extension de la paroi sous l'effet de la turgescence, et l'incorporation de nouveaux composés entre les mailles de fibrilles de cellulose ainsi distendues.

L'auxine agit en fait sur l'élongation cellulaire à deux niveaux :

1. d'une part au niveau de la paroi, dont elle provoque le relâchement. Dans le détail, l'auxine stimule au niveau de la membrane plasmique une pompe à protons, entraînant ainsi une acidification du milieu : le pH au voisinage de la paroi tombe de 6.5 à 4.5. L'efflux de protons a plusieurs conséquences, toutes favorables au relâchement de la paroi : rupture de liaisons acidolabiles entre l'extensine, les hémicelluloses et composés pectiques, et la cellulose ; déplacement du calcium qui soudait entre elles les chaînes uroniques des composés pectiques ; entrée d'ions K^+ provoquant conjointement une entrée d'eau d'où une augmentation de la turgescence cellulaire ; activation de certaines enzymes, de type cellulases et protéases, susceptibles d'hydrolyser les composés de la paroi.
2. d'autre part sur les synthèses protéiques, en modifiant l'expression génique. Il est établi que l'auxine agit sur l'activité génique en régulant la synthèse d'ARNm codant pour des protéines nécessaires à l'élongation. Ces protéines spécifiques de l'élongation cellulaire n'ont pas été clairement identifiées à ce jour. Il reste également à préciser leur rôle et le lien qu'elles peuvent avoir avec la stimulation de l'efflux de protons.

Auxine et division cellulaire

L'auxine stimule les mitoses, mais cette action ne s'exerce pas indistinctement sur tous les méristèmes : l'auxine n'agit pas (ou peu) sur la prolifération au niveau des méristèmes primaires. En revanche, elle a une action très marquée sur la prolifération des cambiums.

Auxine et la croissance des organes végétatifs

L'auxine contribue à la croissance des tiges et des rameaux, à partir des bourgeons apicaux ou axillaires. Son action sur la croissance en longueur dans la zone d'élongation subapicale est maximale pour de concentrations en auxine relativement élevées. Par contre, l'élongation des entre-nœuds n'est pas le fait de l'auxine.

Au niveau des feuilles, les pétioles et les gaines ont leur élongation stimulée par l'auxine. Les limbes des feuilles de Monocotylédones ont leur croissance stimulée par l'auxine, tandis que celle des limbes de Dicotylédones est inhibée par l'auxine.

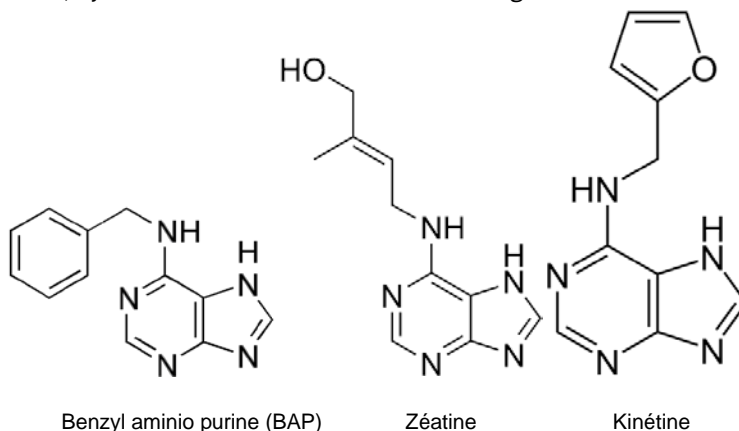
L'action de l'auxine sur l'élongation des racines est toute différente de son action sur les tiges. Elle se ramène à un effet inhibiteur aux concentrations moyennes.

Auxine et organogénèse

La néoformation (ou différenciation) des bourgeons est induite par les cytokinines, sous réserve de la présence de faibles doses d'auxine. Pour des concentrations plus fortes, l'auxine inhibe la différenciation des bourgeons. À forte dose, l'auxine inhibe également le débourrement des bourgeons. L'un des effets organogènes le plus marquant de l'auxine est son pouvoir rhizogène : appliquée à de concentrations assez fortes, l'auxine provoque l'apparition de racines.

Hormonologie végétale : les cytokinines

Les cytokinines sont des substances proches des bases puriques, (adénines substituées). C'est une famille de phytohormones indispensables au développement de la plante tout comme l'auxine, ayant fonction d'hormones chez les végétaux.



En 1902, Gottlieb Haberlandt énonce le concept de totipotence cellulaire : les cellules végétales différenciées sont capables de se dédifférencier puis de se redifférencier (avec une autre fonction ou non). Cependant, les cytokinines, impliquées dans ce phénomène,

n'ont été découvertes que dans les années 40... En 1941, on produit des cals (amas de cellules indifférenciées) en culture *in vitro* avec la présence de lait de coco dans le milieu de culture, puis, trente ans plus tard, on y trouve la zéatine. En 1956, on isole de la kinétine à partir d'ADN de poisson.

Biosynthèse

Les cytokinines sont synthétisées au niveau de l'apex racinaire. Elles sont regroupées en une même famille à cause de la similarité de leurs effets. Elles sont toutes constituées d'une adénine, la différence se faisant sur la chaîne latérale (en position 6).

La voie de biosynthèse de la zéatine suit le schéma :

Adénosine monophosphate (les deux cycles) + Δ^2 -isopentenyl pyrophosphate (la chaîne latérale) -> isopentenyl adenine ribotide (grâce à la Citokinine synthase)

L'isopentenyl adenine ribotide subit ensuite quelques transformations pour arriver rapidement à la forme mature de la zéatine.

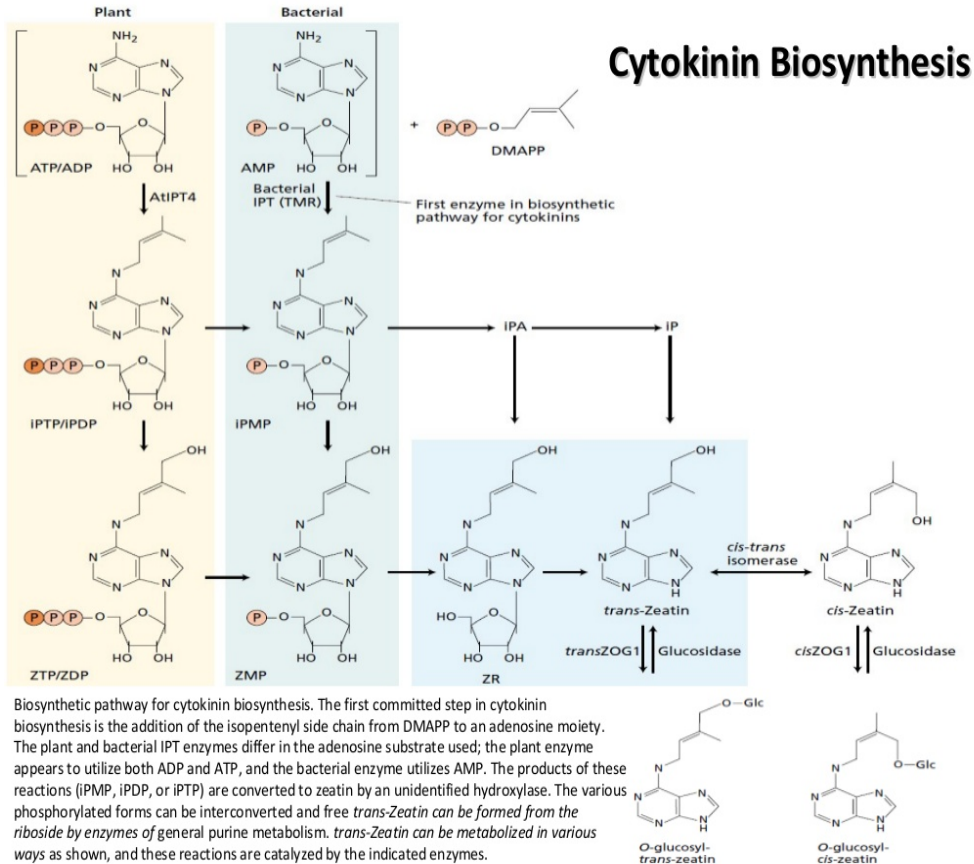
Les cytokinines connues

- Cytokinines de synthèses : benzyl adénine ou benzylaminopurine ou BAP, kinétine
- Cytokinines naturelles :
- zéatine (la plus répandue dans le règne végétal)
- isopentényladénine (IPA)

Propriétés physiologiques

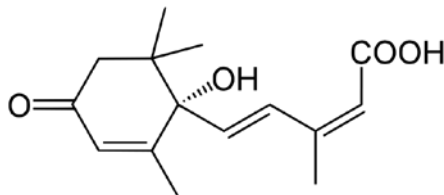
Les cytokinines présentent des propriétés activatrices de la division cellulaire ; elles sont également impliquées dans la croissance et la différenciation cellulaire via de multiples processus physiologiques :

- Activation de la production de chlorophylles
- Activation de l'ouverture des feuilles
- Favorisent la croissance cellulaire
- Favorisent la formation de jeunes pousses
- Favorisent le déchargement de composés sucrés par le phloème
- Retardent la sénescence foliaire
- Conjuguées à l'auxine, activent la division cellulaire (l'auxine favorise la duplication de l'ADN ; les cytokinines permettent la séparation des chromosomes)
- Impliquées dans la morphogenèse
- Inhibent la photosynthèse des plantes en C₄
- Stimulent le métabolisme des cellules de jeunes pousses (qui ne sont pas à leur niveau de métabolisme maximal) en réponse à une augmentation de l'eau et des substances minérales disponibles.

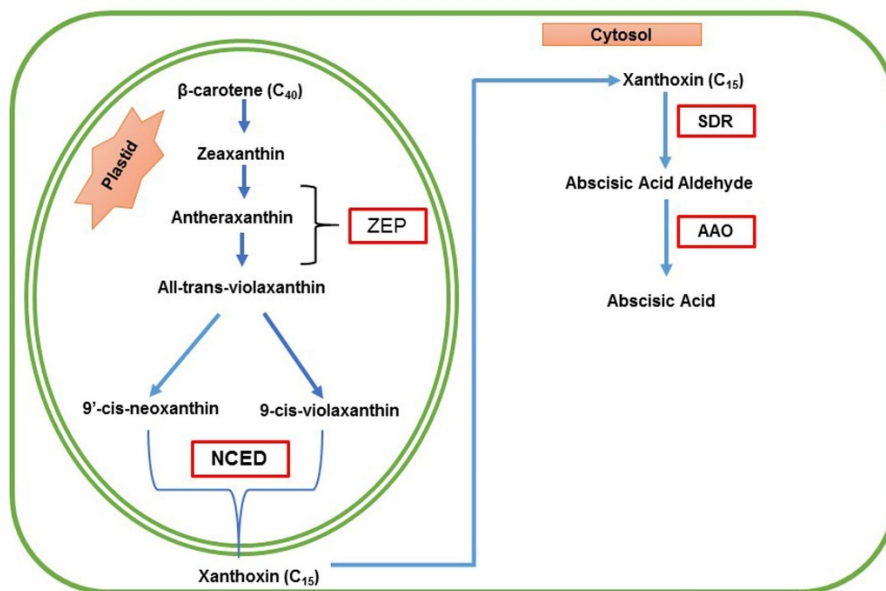


Hormonologie végétale : l'acide abscissique

L'acide abscissique tire son nom du fait, supposé à l'origine, de son rôle dans l'abscission des feuilles. L'acide abscissique ou ABA (de l'anglais *abscissic acid*) est une phytohormone (hormone végétale). Cet acide est un sesquiterpène (terpène composé de 15 carbones).



Substance isolée pour la première fois en 1963 sous le nom d'*abscissine*, impliquée dans l'abscission (d'où son nom) des feuilles de cotonnier. En 1964, on désigne la *dormine* comme responsable de la dormance chez les bourgeons de sycomore. C'est enfin en 1965 que le double rôle d'abscission et de dormance est attribué à l'acide abscissique. Chez les plantes, la production d'acide abscissique est concentrée au niveau du parenchyme des racines et des feuilles matures ainsi qu'au niveau des plastides. C'est à partir de l'acide mévalonique que l'acide abscissique est synthétisé dans les plantes.



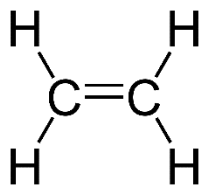
L'ABA est une molécule assez instable qui est vite inactivée. L'ABA peut être inactivé par conjugaison avec des monosaccharides sous forme d'ABA conjugué : ABA-Béta-D-Glucose ester (stockage ou inactivation irréversible) ou par oxydation sous forme d'acide phaséique (PA) puis acide 4'-dihydrophaséique (DPA)

Il n'existe aucun système de transport spécifique à l'ABA connu jusqu'à présent, par contre, l'acide abscissique étant un acide faible, les mouvements et la distribution intracellulaire sont régis par son état d'ionisation (transport non polarisé : phloème dans les feuilles et xylème dans les racines). Cet état ionisé lui permet plus facilement de traverser les membranes lipidiques. Le temps de migration est relativement limité puisque l'acide abscissique est très rapidement métabolisé.

Propriétés physiologiques

- Accélération de l'abscission des feuilles (repos hivernal) sans la déclencher. Le raccourcissement des jours déclenche chez l'arbre la sécrétion d'éthylène, qui transforme en liège la base des pétioles. Faute de circulation de la sève, la chlorophylle disparaît et laisse apparaître les pigments jaunes et rouges qu'elle masquait.
- Induction de la sénescence (maturation des graines en produisant de la LEA ou *Late Embryogenesis Abundant* protein).
- Prolongement de la dormance.
- Arrêt de croissance de bourgeons ayant démarré et réintroduction de la dormance.
- Inhibition de la germination des graines par modification de la perméabilité des membranes.
- Action négative sur l'élongation des entrenœuds.
- Inversion des conditions photopériodiques nécessaires à la floraison.
- Hormone de stress : fermeture des stomates permettant une lutte contre la sécheresse (déficit hydrique), choc osmotique, carence en éléments minéraux, anoxie des racines.
- Chute des fruits secs.
- Impliqué dans les voies de défense contre les agents pathogènes (cross-talk avec les voies de signalisation JA/Éthylène, fermeture des stomates empêchant la pénétration du pathogène déclenchée par un mécanisme de reconnaissance).

Hormonologie végétale : l'éthylène



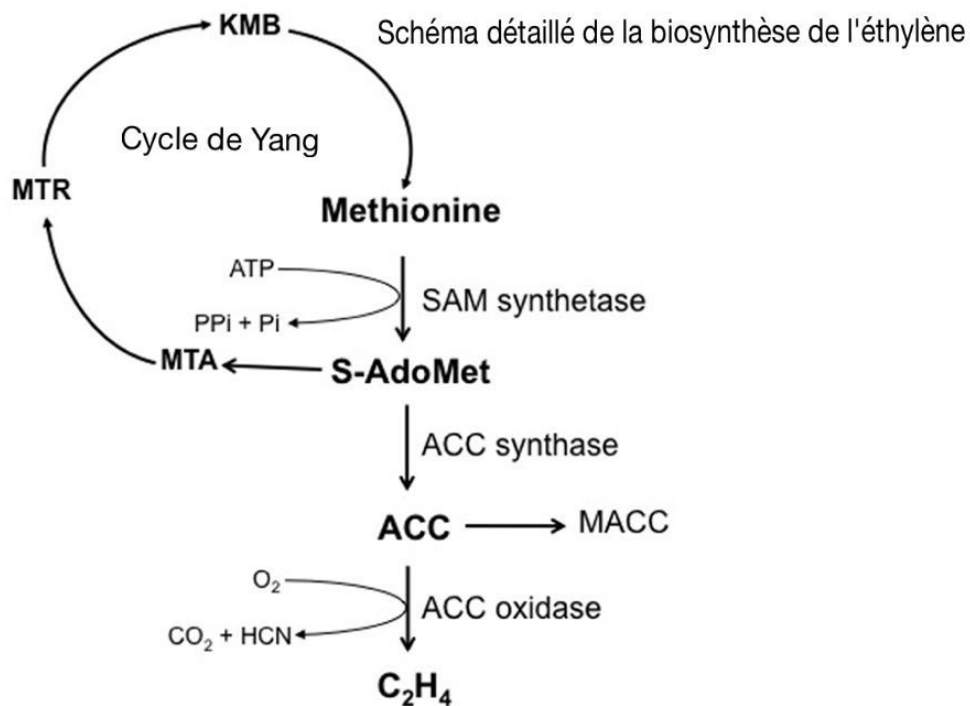
L'éthylène, est un hydrocarbure insaturé. On peut aussi le trouver sous l'appellation R1150. L'éthène (éthylène) est le plus simple des alcènes. C'est un gaz incolore, volatil, de densité proche de l'air avec lequel il forme des mélanges explosifs. À partir de 425°C, il s'enflamme et brûle avec une flamme claire (chaleur de combustion: 47 200 kJ/kg). C'est un gaz très réactif.

L'éthylène a remplacé l'acétylène comme matière première de base dans l'industrie chimique. Les produits issus de l'éthylène C_2H_4 sont : du chlorure de vinyle, de l'éthylbenzène, de l'oxyde d'éthylène, de l'éthanol (ou alcool éthylique), du polyéthylène.

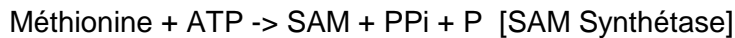
L'éthylène a été découvert en tant qu'hormone végétale en 1901, on remarquait que les feuilles des plantes situées à proximité des lampadaires (à lampe à gaz) tombaient prématurément.

En 1910, on s'aperçoit qu'un fruit confiné mûrit plus vite qu'un fruit à l'air libre. On fait alors un premier rapprochement avec l'éthylène. En 1934 on découvre les voies métaboliques de l'éthylène. Et en 1960, par chromatographie en phase gazeuse, on arrive à doser l'éthylène émis par les plantes.

Biosynthèse



L'éthylène a pour origine la méthionine. Dans le cycle de Yang la méthionine est transformée en S-adénosyl méthionine (par la SAM Synthétase) :



La SAM est ensuite dégradée en 5'méthylthioadénosine (qui est réutilisé par le cycle de Yang) et en Acide 1-AminoCyclopropane-1-Carboxilique par l'ACC Synthase. Une partie de l'ACC est ensuite convertie en éthylène (volatile) grâce à l'ACC Oxydase, le reste va se conjuguer avec du N-Malonyl pour donner du N-Malonyl ACC (non volatile) qui constituera une réserve métabolique. Cette réserve pourra être hydrolysée en fonction des besoins de la plante.

Le facteur limitant la biosynthèse d'éthylène est la production d'ACC (Acide 1-AminoCyclopropane-1-Carboxilique) par l'ACC Synthase. Cette hormone est présente en quantité très faible dans le cytosol, dans les fruits en maturation (au moment où l'éthylène est le plus abondant), elle représente environ 0,0001%. Sa production est régulée par des facteurs environnementaux comme une blessure, le froid, un stress hydrique, une diminution de l'O₂ (immersion dans l'eau); ainsi que par des facteurs endogènes : l'auxine ou les cytokinines, mais aussi l'éthylène. Pour cela, la production d'éthylène est un phénomène autocatalytique.

L'AOA (acide aminooxyacétique) et l'AVG (Aminoéthoxyvinylglycine) bloquent le fonctionnement de l'ACC Synthase. Une absence d'oxygène (anaérobie), des fortes températures (sup. à 35°C), des ions cobalt Co²⁺, inhibent le fonctionnement de l'ACC Oxydase. Le nitrate d'argent AgNO₃, le thiosulfate d'argent Ag (S₂O₃)₂₋₃ ou un milieu enrichi en CO₂, inhibent en aval l'action de l'éthylène.

Le cyclopropène de méthyle (1-MCP) se fixe de façon presque irréversible sur les récepteurs de l'éthylène, qui transmettent alors un signal conduisant à l'inactivité du système de perception, malgré la présence de molécules d'éthylène sur des récepteurs proches.

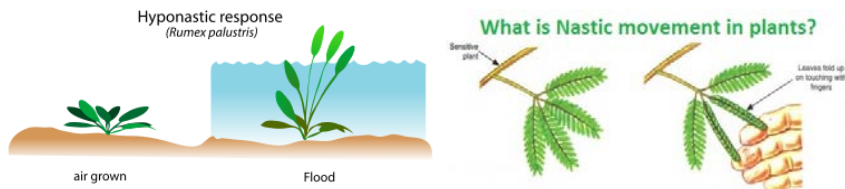
Propriétés physiologiques

L'éthylène module de nombreuses réactions métaboliques (réponses des plantes aux stress biotiques et abiotiques) et elle est impliquée dans les étapes de floraison et stimule la maturation de nombreux fruits. Cette molécule a des effets si variés parce qu'elle est très simple et donc peu spécifique.

- **Maturation des fruits:** L'éthylène est un catalyseur essentiel de la maturation des fruits. Par exemple, un avocat ne mûrit pas sur l'arbre mais six à huit jours après la récolte. On observe alors un pic de production d'ACC, puis d'éthylène qui déclenche la maturation du fruit. La banane produit de l'éthylène pour mûrir, pour empêcher le mûrissement le froid ne suffit pas il faut aussi ventiler l'atmosphère environnant pour éviter l'accumulation d'éthylène. Quand on veut redémarrer le mûrissement de la banane, il suffit de diffuser de l'éthylène
- **Sénescence des organes:** La sénescence des organes est un processus génétiquement programmé influençant l'âge physiologique des entités vivantes. Un apport exogène d'ACC ou d'éthylène entraîne une sénescence prématurée, alors qu'un apport exogène de cytokinine retarde le processus. L'augmentation de la production d'éthylène est associée à une perte de

chlorophylle des feuilles, une dégradation des protéines et des ARN, une perte de pigmentation des fleurs, et autres symptômes de vieillissement.

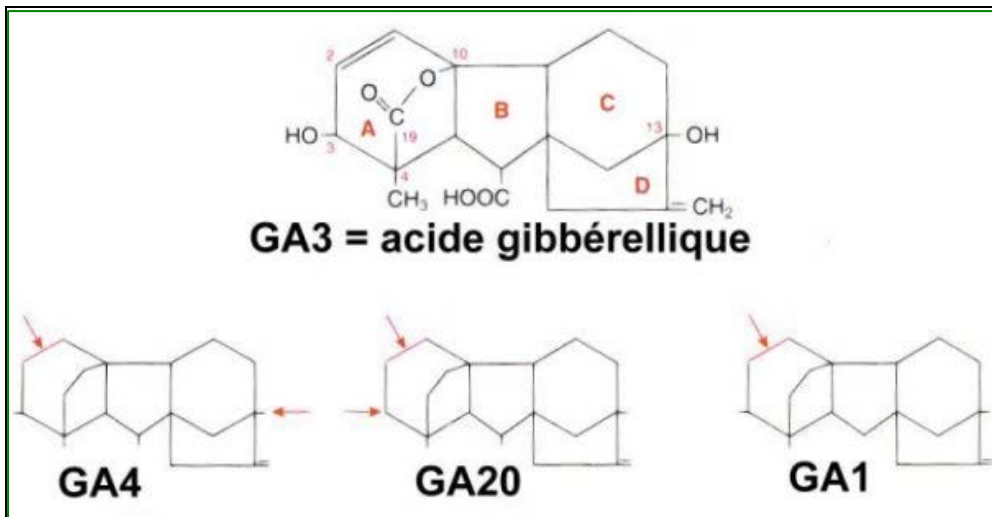
- **Abscission des feuilles :** Les cellules des zones prédisposées à l'abscission répondent spécifiquement à l'éthylène. Une multitude d'enzymes hydrolytiques telles que des pectinases ou des polygalacturonases (qui dégradent l'acide galacturonique) sont alors stimulées, lysent les parois cellulaires et fragilisent la structure du végétal. Le plus souvent, un agent extérieur tel que le vent, donne le coup de grâce et fait tomber l'organe. Les jeunes feuilles produisent de l'auxine qui les insensibilise à l'éthylène. Après le développement de la feuille, la production d'auxine diminue puis s'arrête : les cellules du pétiole sont alors exposées à des concentrations de plus en plus fortes d'éthylène. Au bout d'un certain temps, les zones d'abscission répondent par la synthèse d'enzymes hydrolytiques. De très fortes concentrations d'auxine stimulent la production d'éthylène et donc la chute des feuilles.
- **Mouvements d'épinastie :** Les racines perçoivent l'inondation par une forte diminution de la concentration en dioxygène dans le milieu. L'anoxie stimule la production de SAM (via la SAM Synthétase) et entraîne une augmentation de la teneur en ACC car l'ACC Oxydase ne fonctionne pas : elle ne peut pas oxyder sans oxygène ! L'ACC excédentaire des racines finit par se retrouver dans les feuilles pour être transformé en éthylène. C'est cet éthylène qui est responsable des mouvements d'épinastie.



- **La floraison :** l'éthylène inhibe la floraison sauf chez certaines espèces comme la mangue ou l'ananas où on synchronise la floraison des fruits en apportant de l'éthylène sur l'arbre. L'éthylène peut aussi changer la nature des organes floraux : chez les espèces monoïques, c'est une hormone féminisante.

Hormonologie végétale : les gibbérellines

La gibbérelline est une famille de phytohormone. On dit aussi acide gibbérellique, elles sont nommées G ou GA suivi d'un chiffre (de 1 à 110). La GA₃ est la mieux connue. Elle fut mise en évidence pour la première fois par le phytopathologiste Eiichi Kurosawa en 1926, chez *Gibberella fujikuroi* (Ascomycète parasite du riz qui allonge exagérément les tiges). Entre 1935 et 1938, Teijiro Yabuta (1888-1977) isole et purifie la substance à l'origine de la maladie. En 1954, on détermine la structure chimique de l'acide gibbérellique (GA₃).



Les gibbérellines constituent une famille de composés à 19 ou 20 atomes de carbones, qui présentent des formes conjuguées (associées avec un sucre tel que le glucose). La synthèse des gibbérellines se déroule au niveau des méristèmes, des bourgeons terminaux racinaires et caulinaires, des jeunes feuilles et de l'embryon.

Propriétés physiologiques

- les gibbérellines agissent sur l'élongation des entrenœuds, déterminant parfois des résultats spectaculaires.
- Elles contribuent également à la levée de la dormance des graines et au débourrement des bourgeons (vernalisation). Ce faisant, elles s'opposent donc aux effets de l'acide abscissique. Elles peuvent décaler la mesure du temps chez les végétaux. Les traitements aux gibbérellines se substituent aux jours longs et provoquent la floraison de plantes durant les jours courts de l'hiver.
- À la différence des auxines, les gibbérellines n'inhibent ni ne stimulent la croissance des racines.

VII. Quelques thématiques fondamentales en lien avec les biotechnologies végétales

Définitions

La Biotechnologie est l'utilisation par l'homme d'organismes vivants à des fins de production de substances utiles. Elle est donc très ancienne, puisque l'on peut ranger derrière cette définition une partie des activités agricoles telle que la fabrication des fromages, du vin, de la bière, du yaourt ou du pain.

Désormais, les Biotechnologies sont devenues un domaine passionnant grâce au génie génétique, une technique issue de la biologie moléculaire, qui consiste à modifier de manière ciblée l'ADN, support de l'hérédité. Ces techniques tirent profit de l'universalité du code génétique et permettent de commander à des organismes vivants d'exécuter un programme génétique contenu dans un ou plusieurs gènes provenant d'un autre organisme.

L'irruption des méthodes du Génie Génétique dans la Biotechnologie en a considérablement élargi les possibilités.

Le champ des biotechnologies végétales

1. La multiplication conforme d'un génotype d'élite : le clonage

Reproduire un Individu particulièrement performant à un très grand nombre d'exemplaires, parfaitement identiques au spécimen originel sur le plan génétique :

- Microbouturage (multiplication végétative clonale)
- Culture d'apex (Indexation phytosanitaire)
- Embryogénèse somatique (semences artificielles)

2. L'amélioration des plantes

- Apports des biotechnologies à la sélection génétique classique
 - Faciliter les croisements Interspécifiques (Plantes d'espèces différentes)
 - Maîtriser l'introgression de nouveaux caractères
 - Diminuer la durée de la création variétale
- Recherche de variabilité génétique
 - Disposer de ressources génétiques élargies
 - Pouvoir introduire des gènes d'intérêt de manière plus précise, rapide et efficace (hybridation somatique par fusion des protoplastes)
 - Sauvetage d'embryons interspécifiques
 - Variation somaclonale

- L'haploïdisation (plantes homozygotes)

3. La création de nouvelles plantes et des plantes transgéniques

▪ Génie Génétique

- Caractérisations des marqueurs moléculaires pour évaluer la diversité génétique des collections végétales
- Repérage et découpe d'un gène chez le donneur : Modifications du patrimoine génétique et création variétale

▪ Transgénèse Végétale

- Vecteur de transformations *Agrobacterium tumefaciens*
- Microinjections- Biolistique – Electroporation....

▪ Applications Biotechnologiques

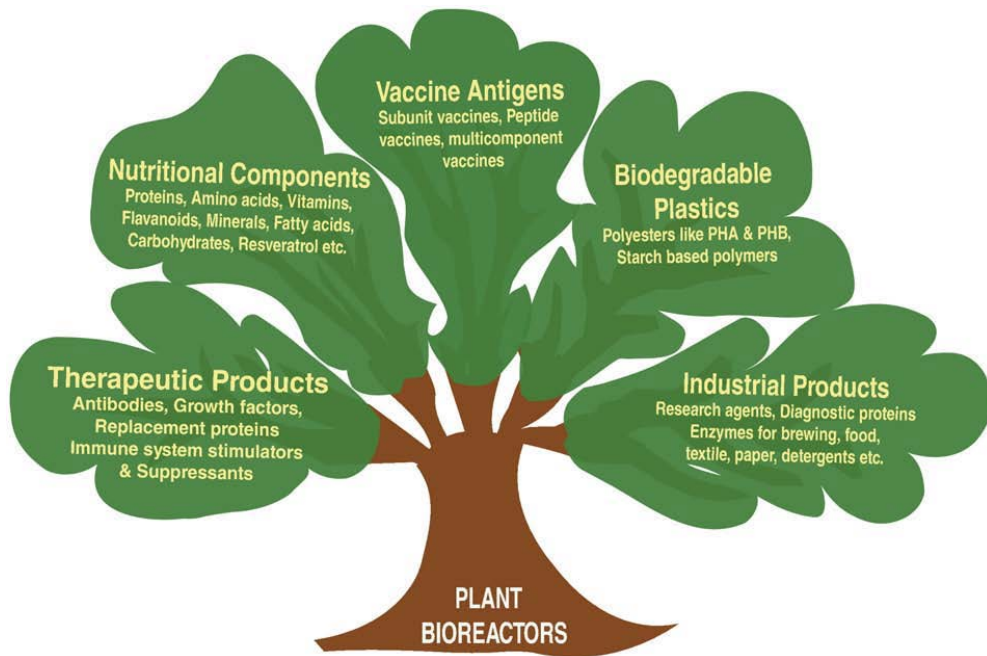
- Amélioration de la qualité d'un produit (avantages nutritionnels et gustatifs)
- Maturation des fruits
- Résistance aux insectes et aux virus
- Tolérance aux herbicides
- Produits industriels : Pâtes à papier (Peupliers à teneur en lignine réduite), huiles alimentaires (oléagineux transgénique à haute teneur en acides gras désirables)...
- Santé : Production de substances d'intérêts thérapeutique : anticorps, vaccins, produits sanguins...

Les Plantes Génétiquement Modifiées (OGM) sont surtout connues du grand public pour l'introduction de nouveaux caractères d'intérêt agronomique dans des variétés cultivées.

Actuellement, outre ces applications à l'amélioration des plantes, la transgénèse intéresse les Industries biopharmaceutiques, qui voient dans les cellules végétales et les plantes (vitroplants) de nouvelles usines capables de produire à coût réduit des protéines recombinantes et des molécules à forte valeur ajoutée.

Aujourd'hui, outre ces applications à l'amélioration des plantes, la transgénèse intéresse les Industries Biopharmaceutiques, qui voient dans les Cellules Végétales et les Plantes (vitroplants), de nouvelles usines capables de produire à coût réduit des protéines recombinantes et des molécules à forte valeur ajoutée.

Les récents travaux ouvrent des espoirs dans la production des « vaccins comestibles » à usage humain, contre par exemple la carie dentaire, le choléra, le virus de l'Herpes et contre des cellules cancéreuses. La production d'anticorps entiers ou de fragments d'anticorps par les plantes transgéniques, pour des usages diagnostics thérapeutiques est en pleine expansion.



Tree depicting biotechnological advances using plants as bioreactors
Sharma AK, Sharma MK Biotechnol Adv (2009), doi:10.1016/j.biotechadv.2009.06.004

VIII. La transgénèse végétale: La transformation via *Agrobacterium tumefaciens*

(Marie Weidner et Gilles Furelaud)

La transgénèse consiste à ajouter un nouveau gène dans un organisme. Chez les végétaux, plusieurs techniques de transgénèse ont été développées. La possibilité de régénérer une plante entière à partir de quelques cellules végétales est d'un grand intérêt lors de ces transgénèses.

Une des techniques les plus utilisées en transgénèse végétale est l'utilisation d'une bactérie du sol, *Agrobacterium tumefaciens*. Une bactérie infectant naturellement les Végétaux Supérieurs, *Agrobacterium tumefaciens* est une bactérie en forme de bâtonnet, de la famille des Rhizobium. Elle se développe dans le sol.

Elle est attirée par des composés phénoliques dégagés par les plantes dicotylédones lorsqu'elles sont blessées. Au niveau de cette blessure, *Agrobacterium* est capable de se fixer sur les cellules du végétal. A la suite de ce contact, ces cellules végétales se multiplient de manière importante, donnant naissance à une formation tumorale. Elle est en général située au niveau du collet, d'où le nom de cette formation : la galle du collet (crown gall).

Les cellules de la galle libèrent des composés chimiques particuliers dans le milieu : les opines, molécules formées de deux acides aminés couplés. Les bactéries *Agrobacterium* présentes près de la galle, dans le sol, sont capables d'utiliser alors ces opines comme source d'azote, mais aussi de carbone et d'énergie.

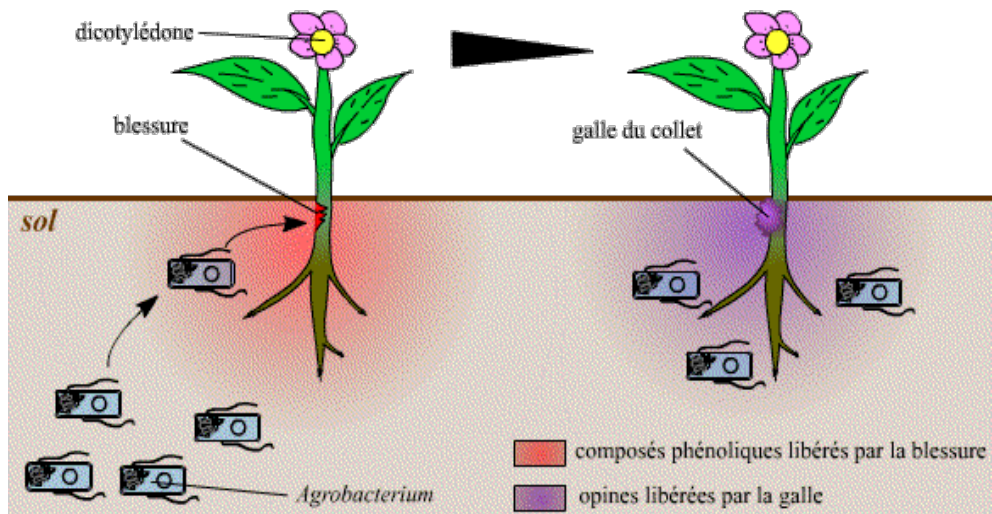


Figure 1. L'infection de la plante par *Agrobacterium* induit le développement d'une galle

Agrobacterium tumefaciens est donc capable d'induire, chez une plante dicotylédone, la formation d'une galle lui fournissant un substrat. Depuis 1974, on sait que cette induction est due au transfert d'un petit ADN plasmidique depuis la bactérie jusque dans le génome des cellules de la plante.

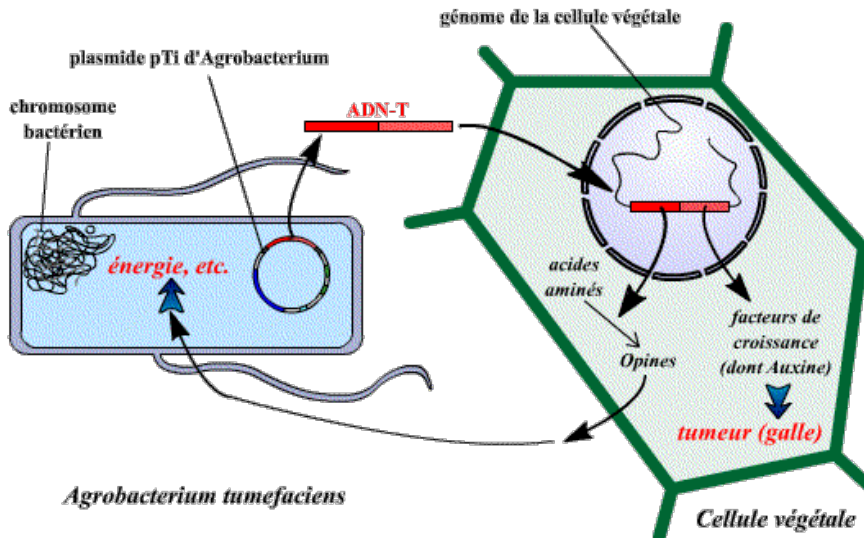


Figure 2. *Agrobacterium* transfère un fragment d'ADN (l'ADN-T) dans le génome de la plante.

Une bactérie potentiellement utilisable en transgénèse

Agrobacterium tumefaciens (tout comme, d'ailleurs, d'autres bactéries de la famille des Rhizobium) est donc capable d'injecter un ADN dans une cellule végétale où il s'insère dans le génome chromosomique. Cet ADN, qui peut circuler ainsi d'un organisme à un autre, est un fragment de plasmide (ADN circulaire bactérien de petite taille) : le plasmide pTi.

Agrobacterium réalise donc, naturellement, une transgénèse d'une partie de ses gènes (grâce à pTi) dans un organisme végétal. L'ADN qui est ainsi transféré est nommé ADN-T. Il a donc été rapidement proposé, une fois ce mécanisme connu, de le détourner dans un but de transgénèse. Pour cela, il "suffit" de remplacer l'ADN-T par un autre ADN portant un gène d'intérêt, par exemple.

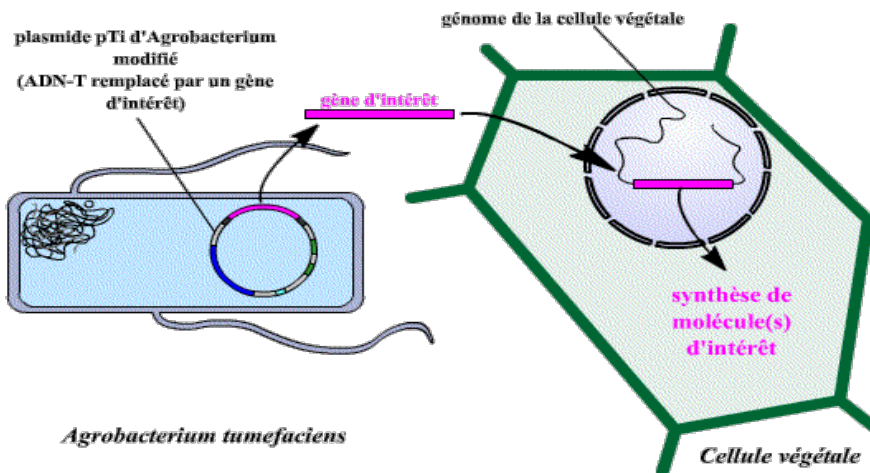


Figure 3. Le remplacement de l'ADN-T par un gène d'intérêt permet d'envisager une technique de transgénèse.

Le plasmide pTi est un petit plasmide, de 215 milliers de paires de bases. Ce plasmide comporte plusieurs régions :

	ADN-T	<p>Région transférée de la bactérie à la cellule végétale.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cette région est flanquée de deux zones de bordures (FD à droite et FG à gauche), importantes pour la réalisation du transfert. • L'ADN-T comporte une région permettant le développement de la tumeur (galle) chez la plante infectée. • L'ADN-T comporte aussi les gènes permettant la synthèse et la libération des opines par les cellules végétales.
	VIR	<p>Région de virulence.</p> <p>Cette région comporte une série de gènes, qui permettent la fixation de la bactérie aux cellules végétales et le transfert de l'ADN-T.</p>
	OCC	<p>Région de catabolisme des opines.</p> <p>Cette région permet à la bactérie d'utiliser les opines libérées par le végétal suite à son infection par l'ADN-T.</p>
	ORI	<p>Région de réplication.</p> <p>Cette région permet au plasmide de se multiplier dans la bactérie.</p>

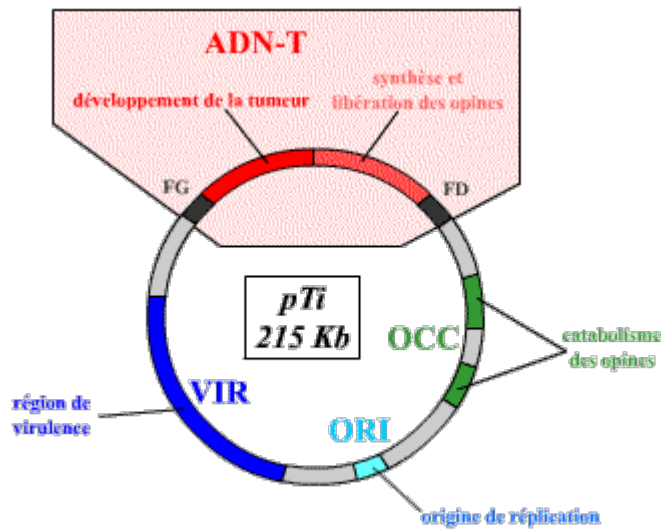


Figure 4. Le plasmide pTi

Un exemple de vecteur pour la transgénèse

La réalisation d'un vecteur de transgénèse par *Agrobacterium tumefaciens* implique donc de remplacer l'ADN-T, qui sera transféré, par le gène que l'on souhaite introduire dans le végétal. Il existe de nombreuses stratégies dans ce but. Les méthodes les plus complexes permettent désormais d'obtenir des plantes où le transgène se limite au seul gène d'intérêt, sans aucune séquence supplémentaire. Pour plus d'informations sur les différentes stratégies et leurs intérêts, voir la page "des vecteurs pour la transgénèse par *Agrobacterium tumefaciens*". Le vecteur le plus simple à obtenir est un vecteur où l'ADN-T a été remplacé par un ADN comportant en particulier le gène d'intérêt (GI) accompagné d'un gène de sélection (GS) :

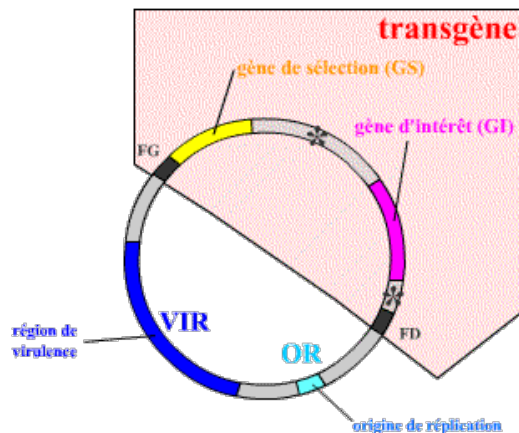


Figure 5. Un vecteur simple utilisable en transgénèse par *Agrobacterium tumefaciens*.

L'ADN-T est remplacé par un transgène, porteur d'un gène d'intérêt (GI) associé à un gène de sélection (GS). Du fait des techniques utilisées, certaines séquences bactériennes sont encore présentes dans cette construction simple; elles sont notées * sur la figure (les constructions plus récentes ne possèdent plus ou presque plus de séquences bactériennes). Ce vecteur est en fait obtenu après recombinaison entre un plasmide pTi modifié et un plasmide portant la construction transgénique.

Le gène de sélection permet de repérer facilement les cellules ou amas de cellules qui ont intégré l'ADN transgénique à leur génome. Il s'agit en général d'un gène permettant la survie de ces cellules dans certaines conditions particulières, ou bien d'un gène aboutissant à la présence d'une molécule repérable facilement.

Conclusion: un outil performant pour la transgénèse végétale

Grâce à un plasmide pTi modifié, porteur d'un transgène à la place de l'ADN - T, on peut donc réaliser des plantes transgéniques. Dans un premier temps, des bactéries *Agrobacterium tumefaciens* porteuses du vecteur sont mises au contact de la plante (une blessure a été réalisée sur la plante afin de permettre l'infection).

Les amas de cellules tumorales sont cultivés, sur un milieu sélectif (permettant de mettre en évidence la présence ou l'absence du gène de sélection). Ils forment des cals.

Les cals qui ont reçu le transgène sont alors cultivés dans des conditions permettant la régénération d'une plante complète : la plante transgénique a été obtenue.

Une bactérie très proche d'*Agrobacterium tumefaciens*, la bactérie *Agrobacterium rhizogenes* est utilisable de la même manière. L'ADN transféré est alors porté par un plasmide nommé pRi.

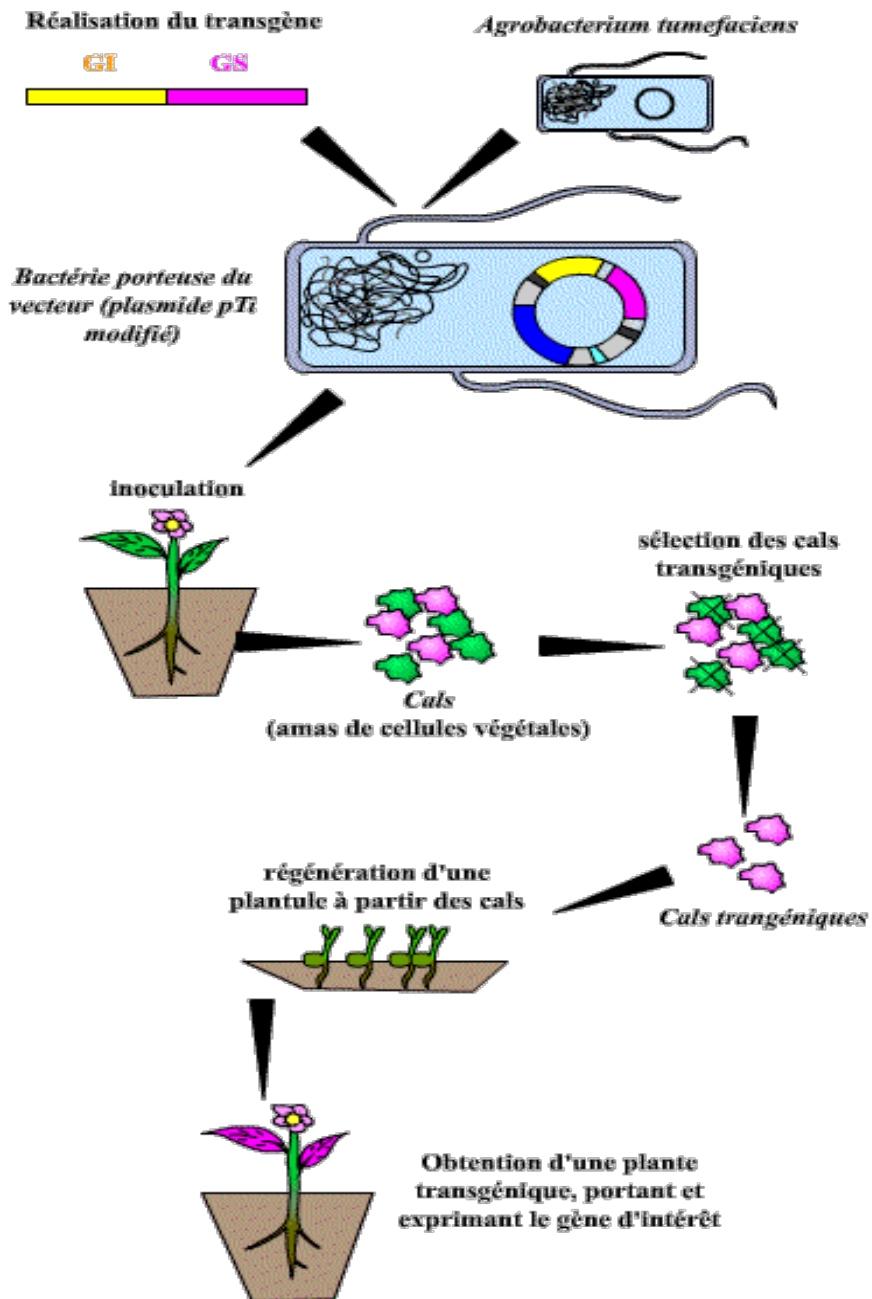
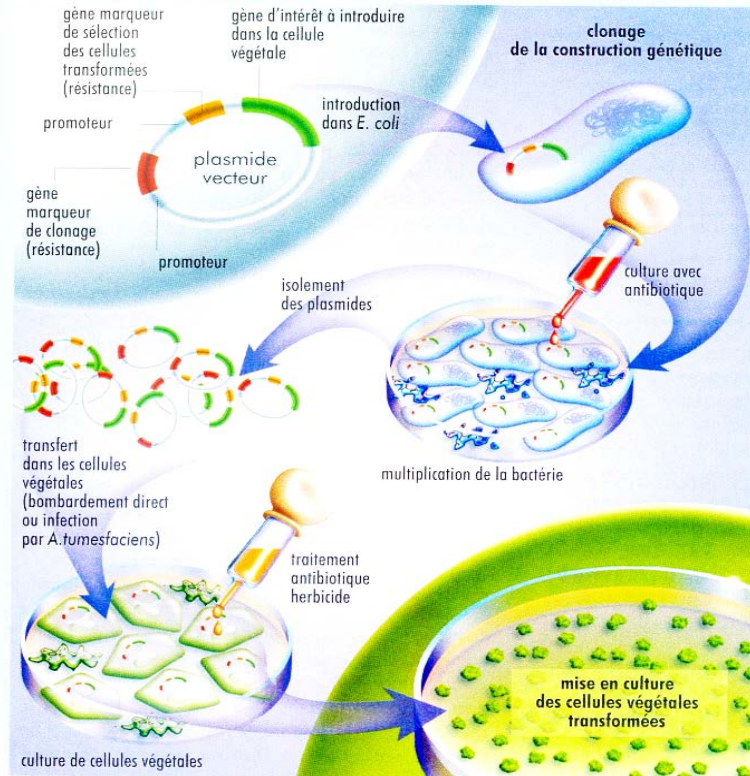


Figure 6. Résumé des étapes de la réalisation d'une plante transgénique grâce à *Agrobacterium tumefaciens*.

PRINCIPALES ÉTAPES DE LA TRANSGÉNÈSE VÉGÉTALE

Les plantes transgéniques possèdent deux gènes de résistance aux antibiotiques. Le premier, gène de clonage, permet aux chercheurs de maintenir leur construction génétique dans la bactérie *E. coli* quand ils la multiplient. Le second sert à sélectionner les cellules végétales ayant intégré cette construction.



VII. Les OGM et leurs multiples Facettes

Dans un monde qui devra nourrir 9 milliards de personnes en 2050, l'Agriculture est confronté à des contextes climatiques incertains, particulièrement dans le continent Africain. Le développement agricole ne peut se concevoir sans une limitation de son impact sur l'environnement.

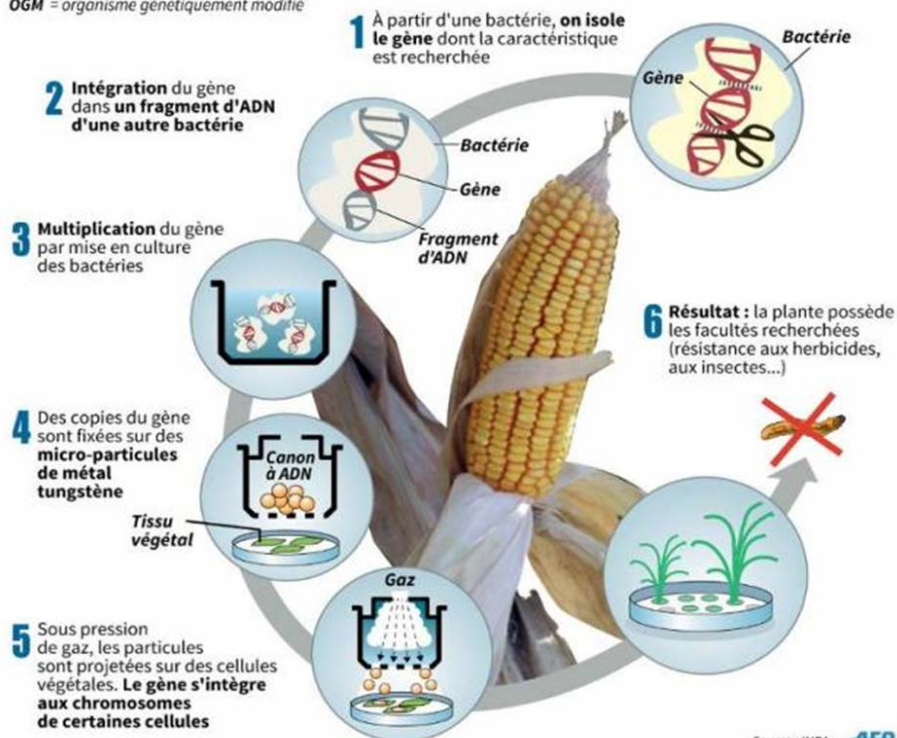
Face à ces défis multiples, les scientifiques avancent l'idée de l'apport décisif des biotechnologies. Parmi les ruptures technologiques en cours ou anticipés, les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) sont devenus des objets de controverse au Sud comme au Nord, au sein de la communauté scientifique comme dans le grand public. Le continent Africain particulièrement se trouve au centre de cette controverse, contraint de définir des politiques publiques concertées en réponse à un défi technologique venu du Nord.

Ces OGM font beaucoup parler d'eux depuis qu'ils ont été introduits dans le domaine agroalimentaire. Mais les OGM ont de multiples domaines d'application et donc de multiples facettes !

Comment sont fabriqués les OGM

Un ou plusieurs gènes qui induisent une nouvelle faculté sont introduits au sein du patrimoine génétique de la plante

OGM = organisme génétiquement modifié



En Recherche fondamentale comme en Médecine, ils constituent des outils pour étudier les mécanismes moléculaires du vivant ou produire des protéines d'intérêt pharmaceutique. Dans le premier cas, l'OGM est une « éprouvette biologique », dans le second cas, c'est une usine à médicaments.

Dans le domaine agroalimentaire, la situation est différente. D'abord, il s'agit d'OGM utilisés non plus en espaces confinés mais destinés à être disséminés en plein air et à finir dans les assiettes. De plus, l'OGM est un organisme à part entière, ce qui implique la nécessité de maîtriser parfaitement l'impact des modifications génétiques aussi bien sur l'organisme lui-même mais également sur ces interactions avec l'environnement.

Le débat s'ouvre sur le manque de contrôle de ces paramètres et la carence et l'opacité d'évaluation sur les risques tant sur le plan sanitaire qu'écologique. Y a-t-il aujourd'hui, pour ces OGM agroalimentaires une urgence sociale ou une utilité qui puissent justifier la prise de risques pour l'environnement, les cultures en place et les consommateurs ?

On voit donc que les OGM sont porteurs de questionnement susceptible de mobiliser de nombreuses Sciences sociales à la Médecine, en passant par l'Agriculture et l'Ecologie...

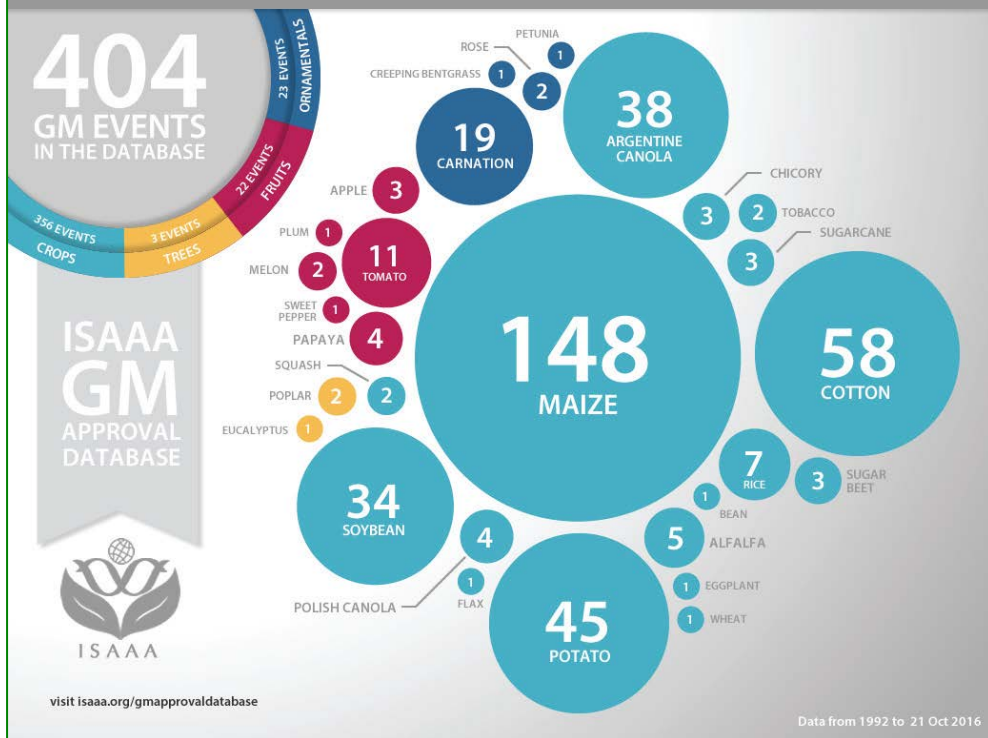
L'Organisation d'un Débat Public non partisan ou une Journée Porte Ouverte informelle prévue dans le cadre de l'Itinéraire Pédagogique peut fournir une opportunité d'informer et d'éclairer sur ce défi scientifique au cœur du développement agricole.



26 countries planted 185.1 million hectares (457.4 million acres) of biotech crops in 2016, the 21st year of global commercialization of biotech crops



Approved Transgenic Plant Events, 1992-2016



VIII. Une étude canadienne sur les OGM alimentaires

Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 28 juillet 2005].

www.ogm.gouv.qc.ca

Organisation mondiale de la Santé. Thèmes de santé, Aliments génétiquement modifiés - Vingt questions sur les aliments transgéniques, *OMS*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.who.int

Recherche et rédaction : Lucie Dumoulin et Marie-Michèle Mantha, M.Sc.

Révision : Yves Desjardins, agronome, professeur titulaire au Département de phytologie de l'Université Laval, Québec.

Les OGM alimentaires : bilan de santé

Savez-vous que les OGM ont d'abord été créés pour rendre l'agriculture plus performante? Et que maintenant, d'autres OGM en développement viseraient davantage les consommateurs avec des aliments plus nutritifs contenant moins de gras et de calories?

Voici un dossier qui vous donne une vue d'ensemble sur les OGM alimentaires. Vous y trouverez sans doute réponse à vos questions et matière à réflexion.

Qu'est-ce qu'un OGM?

Un Organisme Génétiquement Modifié. C'est un organisme vivant (végétal, animal ou microbien) dont les caractéristiques naturelles ont été modifiées par retrait ou ajout d'un ou de plusieurs gènes (modification génétique). Ce nouvel organisme demeure somme toute identique à l'organisme d'origine, sauf pour le gène transféré.

L'organisme. En principe, n'importe quel organisme peut subir des manipulations génétiques et devenir un OGM. Pour le moment, les seuls qui soient commercialisés depuis 1996 sont des végétaux destinés essentiellement à l'alimentation animale

Les gènes. Chaque cellule d'un organisme vivant contient une structure en forme de ruban replié appelée ADN. Toute l'information nécessaire au fonctionnement de l'organisme au complet est inscrite dans l'ADN. Chaque détail de cette information est représenté par un gène, qui est donc un bout d'ADN ou, autrement dit, un bout du code génétique. L'ADN contient des dizaines de milliers de gènes. Le génie génétique a déjà identifié à quoi sert une grande partie d'entre eux.

Chaque gène mène à la formation d'une protéine précise ayant une fonction spécifique, comme digérer les protéines présentes dans le lait, par exemple, ou combattre un virus. L'ensemble des protéines détermine les caractéristiques de l'organisme et en assure la croissance et la reproduction.

La modification

Il arrive que des modifications génétiques se produisent spontanément. C'est ce qui a permis l'évolution des organismes vivants à leur degré actuel de complexité. Depuis longtemps, les humains procèdent également à la création d'organismes nouveaux par croisement (espèces animales) ou hybridation (espèces végétales).

Mais les OGM sont obtenus par « transgénèse », une intervention dans le code génétique même d'un organisme (d'où l'appellation « plante transgénique »). Cela consiste généralement à insérer dans son ADN un ou quelques gènes d'un autre organisme - pas nécessairement de la même espèce - dans le but de lui conférer la ou les caractéristiques souhaitées que représentent ce ou ces nouveaux gènes. L'intervention peut aussi consister à augmenter l'activité de certains gènes désirables (pour produire, par exemple, des raisins plus riches en flavonoïdes) ou à diminuer l'activité de gènes indésirables (produire des pommes de terre contenant moins de composés nocifs comme les alcaloïdes).

La raison d'être des OGM

Un peu d'histoire

- **1973.** Des biochimistes de l'Université de Stanford, en Californie, développent la technique de transgénèse et l'utilisent avec succès dans une bactérie^{4,5}.
- **1983.** La première plante transgénique est créée en Belgique : du tabac doté d'un gène de résistance à un antibiotique.
- **1990.** Dans le domaine de l'alimentation, on commence à utiliser la transgénèse de micro-organismes dans la fabrication de fromages, pour obtenir l'enzyme qui sert à faire cailler le lait (la chymosine). Traditionnellement, elle était prélevée dans l'estomac des veaux. Depuis, s'est ajouté l'emploi de levures transgéniques pour la fabrication de bière, de vin et de pain.
- **1992.** Premiers essais de plantes transgéniques cultivées en champs.
- **1996.** C'est en 1996 que les États-Unis et le Canada commencent à cultiver des végétaux génétiquement modifiés à des fins commerciales, pour l'alimentation animale et humaine. L'Argentine suivra en 1997, puis d'autres pays.

L'intérêt de la transgénèse. Dans les champs, les OGM ont pour caractéristique d'être plus tolérants à certains herbicides ou plus résistants à certains insectes. Les entreprises productrices de semences transgéniques promettent des impacts positifs sur l'environnement ainsi que pour les agriculteurs : un contrôle plus aisé des mauvaises herbes, un usage réduit de pesticides et d'insecticides et une meilleure productivité par hectare. Autrement dit, les agriculteurs produiraient plus et à moindre coût, en polluant moins. En outre, les entreprises prétendent contribuer à combattre les problèmes de malnutrition dans le monde en augmentant la productivité mondiale de denrées alimentaires. À ce sujet, plusieurs observateurs croient plutôt qu'à la base, le problème de malnutrition résulte d'une distribution inéquitable des denrées. Éventuellement, on estime que la stabilisation des rendements agricoles et les économies réalisées pourraient faire baisser le coût des aliments, mais cela ne s'est pas encore concrétisé.

La transgénèse en agriculture : Elle se distingue des méthodes classiques (la sélection des meilleures semences, l'hybridation ou le croisement) de trois façons³ :

- en permettant de transférer des gènes d'un donneur de n'importe quelle espèce végétale, animale ou microbienne, vers n'importe quel organisme receveur;
- en permettant de réaliser une modification très ciblée, comme d'ajouter ou de supprimer un seul gène;
- par sa rapidité.

La transgénèse dans l'industrie : elle permet aussi d'obtenir :

- une grande quantité d'une substance désirée;
- une grande efficacité de production, de manière économe et moins polluante.

Des exemples de plantes transgéniques et leur utilité

- **Les plantes Bt.** À certaines plantes transgéniques, on a ajouté un gène qui permet de produire une toxine contre les insectes. L'abréviation Bt signifie *Bacillus thuringiensis*. Il s'agit d'une bactérie présente dans le sol, qui produit naturellement une toxine contre les insectes.
La plante Bt réussit donc à tuer les insectes qui s'attaquent à ses feuilles. Différents types de cette toxine élimineront différents types d'insectes ravageurs (pyrale, doryphore, etc.). Par exemple, il existe une variété de maïs Bt qui combat la pyrale, un papillon dont la chenille s'attaque au maïs. Le Bt est un biopesticide employé en agriculture classique et biologique depuis plusieurs années. Au moment de la récolte, la toxine est encore présente dans la plante (comme c'est le cas lorsqu'on procède à l'épandage de Bt comme insecticide). Dégradée dans l'estomac, elle est jugée sans danger pour les humains⁶.
- **Les plantes transgéniques résistantes à un herbicide.** Elles possèdent un gène qui les empêche de mourir après avoir été aspergées d'herbicide à large spectre (par exemple, les semences transgéniques Roundup Ready® de Monsanto). Ces plantes GM permettent d'utiliser un seul herbicide extrêmement efficace, qui tue sans distinction toutes les plantes indésirables. Souvent, les agriculteurs de cultures intensives doivent utiliser plusieurs types d'herbicides à spectre plus étroit, qui s'attaquent chacun à un type de mauvaise herbe. La plante survit à l'épandage soit en détoxiquant l'herbicide, soit en déjouant le mécanisme par lequel l'herbicide tue la plante.

Les principaux acteurs

En l'an 2000, six firmes des États-Unis et d'Europe, Syngenta, Bayer et Monsanto en tête, détenaient 98 % du marché mondial des semences transgéniques, et 70 % du marché mondial des pesticides.

Compagnies	Produits agrochimiques (millions de \$)	Semences transgéniques (millions de \$)	Total des ventes (millions de \$)
Syngenta	5,385	938	6,323
Bayer Aventis	6,086	192	6,278
Monsanto	3,505	1,707	5,212
DuPont	1,922	1,920	3,842
BASF	3,114	0	3,114
Dow	2,627	215	2,842
Total	22,639	4,972	27,611

Source : Agrifutura, Phillips McDougall⁸

En 2004, la valeur globale du marché des semences transgéniques s'élevait à 4,40 billions de dollars, soit 15 % du marché global des semences.

Le principal pays producteur est les États-Unis, dont les cultures transgéniques occupaient 47,6 millions d'hectares en 2004⁷. L'Argentine suit, avec 16,2 millions d'hectares, puis le Canada, avec 5,4 millions. Viennent ensuite le Brésil et la Chine.

Des possibilités infinies

Les médias s'intéressent surtout à l'application agroalimentaire des OGM. Cependant, la transgénèse trouve des applications dans plusieurs autres domaines, mais cette fois, à l'intérieur d'environnements confinés² :

- **pharmaceutique** : par exemple, pour produire de l'insuline humaine ou des hormones de croissance, des substances auparavant extraites d'animaux, ou encore pour délivrer des vaccins (des bananes transgéniques porteuses de vaccins ont été produites, mais ne sont pas encore prêtes à être commercialisées);
- **industriel** : par exemple, pour fabriquer des produits de lessive qui permettent le lavage à l'eau froide, pour créer des polymères biodégradables et des biocarburants;
- **recherche fondamentale** : par exemple, pour approfondir les connaissances en biologie, pour créer certains modèles d'animaux de laboratoire et pour améliorer les espèces animales et végétales.

Bibliographie

Commission de l'éthique de la science et de la technologie. *Pour une gestion éthique des ogm*, Gouvernement du Québec, octobre 2003. Disponible sur Internet : www.ethique.gouv.qc.ca [Consulté le 28 juin 2005].

Cornell Cooperative Extension. What traits have been engineered?, *GEO-PIE*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.geo-pie.cornell.edu

Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés, Information générale - Historique, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca

International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications. www.isaaa.org. [Consulté le 30 juin 2005].

National Library of Medicine (Ed). PubMed, NCBI. [Consulté le 30 juin 2005].

www.ncbi.nlm.nih.gov

Santé Canada, Direction générale des produits de santé et des aliments. Les questions les plus demandées - Biotechnologies et aliments génétiquement modifiés, *Santé Canada*. [Consulté le 15 juillet 2005]. www.hc-sc.gc.ca

The Ecologist. [Consulté le 5 août 2005]. www.theecologist.org

Notes

1. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications. Dominant Biotech Crops, Clive James, 2004. [Consulté le 30 juin 2005]. www.isaaa.org.
2. Commission de l'éthique de la science et de la technologie. *Pour une gestion éthique des ogm*, Gouvernement du Québec, octobre 2003. Disponible sur Internet : www.ethique.gouv.qc.ca. [Consulté le 28 juin 2005].
3. Cohen SN, et al. « Construction of biologically functional bacterial plasmids in-vitro » *Proceedings of the National Academy of Science* 1973;70 (11), p.3240-3244. Résumé non disponible.
4. Cohen SN, Chang AC, Boyer HW, Helling RB. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973 Nov;70(11):3240-4. Article disponible en entier : www.pubmedcentral.nih.gov. [Consulté le 30 juin 2005].
5. Santé Canada, Direction générale des produits de santé et des aliments. Les questions les plus demandées - Biotechnologies et aliments génétiquement modifiés, *Santé Canada*. [Consulté le 15 juillet 2005]. www.hc-sc.gc.ca
6. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications. *Biotech Crop Countries and Mega-Countries*, 2004. [Consulté le 5 août 2005]. www.isaaa.org
7. Tiré de : The Ecologist. Taking Stock, *EcologistOnline*, 1^{er} juillet 2003. [Consulté le 5 août 2005]. www.theecologist.org

Des OGM dans les aliments

Une fois à l'épicerie, comment savoir si l'on achète ou pas des OGM? La tâche est d'autant plus difficile dans les pays où l'étiquetage des produits alimentaires génétiquement modifiés n'est pas obligatoire, comme au Canada et aux États-Unis.

Les différents types

- Les aliments entiers OGM, comme le soya, le maïs, les fruits ou les légumes transgéniques.
- Les produits alimentaires dérivés d'OGM, qui sont produits à partir d'OGM. Ils entrent généralement dans la composition de produits alimentaires sous forme d'ingrédients. Ils ne sont pas considérés comme des OGM, car ils ne peuvent ni se reproduire, ni transmettre de matériel génétique. On en distingue deux sortes :

- ceux qui contiennent du matériel transgénique : par exemple, de la sauce soja, produite à partir de soja transgénique, ou de la farine de maïs faite à partir de maïs transgénique;
- ceux qui ne contiennent pas de matériel transgénique, celui-ci ayant été éliminé au moment de la fabrication du produit : par exemple, de la lécithine de soja faite à partir de soja transgénique ou de l'huile de canola obtenue de canola transgénique.

Leur étiquetage

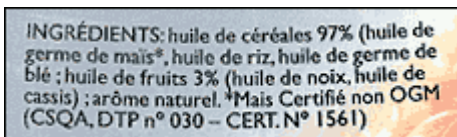
Dans les pays de l'Union européenne, les aliments contenant plus de 0,9 % de matériel génétiquement modifié doivent être étiquetés OGM (de la manière décrite dans l'encadré ci-dessous). Ce qui veut dire que moins de 0,9 % du poids du produit peut être constitué de produit génétiquement modifié. Au Canada et aux États-Unis, ce seuil est fixé à 5 % au-delà duquel un étiquetage est possible, mais pas obligatoire.

L'étiquetage obligatoire

Plus de 30 pays ont adopté ou du moins prévu un étiquetage obligatoire. Les pays de l'Union européenne possèdent les normes les plus restrictives, avec un étiquetage obligatoire de tous les aliments transgéniques (fruits et légumes frais, par exemple) et des dérivés d'OGM (farines, semoules, huiles, etc.) depuis la levée du moratoire empêchant leur commerce, en avril 2004. L'Australie et la Russie ont également adopté un système d'étiquetage obligatoire, mais qui exclut certains dérivés d'OGM.

Plusieurs groupes de consommateurs réclament des normes d'étiquetage obligatoire à l'échelle internationale. Ils font valoir de nombreuses questions éthiques qui entrent en ligne de compte dans ce dossier : l'autonomie des agriculteurs, le brevetage du vivant, le manque de transparence des entreprises qui développent les OGM, etc. Aussi, ils font échos aux préoccupations des citoyens, notamment au sujet des risques pour la santé publique et l'environnement, liés à l'utilisation et à la consommation d'OGM.

Les mentions à surveiller sur les étiquettes dans les pays où des règles d'étiquetage obligatoire sont en vigueur^{10,11} :



- « ce produit contient des organismes génétiquement modifiés »
- « ce produit contient du (nom du ou des organismes) génétiquement modifié(s) »
- « (nom du ou des organismes) génétiquement modifié(s) »
- « peut contenir des organismes vivants modifiés ».

L'étiquetage volontaire

Le Canada, les États-Unis et la Chine ont un système d'étiquetage volontaire, à quelques variantes près. Plusieurs pays en développement n'ont aucune réglementation en place. Au Canada, l'étiquetage volontaire mécontente la population; 83 %⁹ des Canadiens sont en faveur d'un étiquetage obligatoire. À l'instar de groupes écologistes, la Société royale du Canada, un organisme formé de chercheurs indépendants, s'est aussi prononcée pour l'étiquetage obligatoire. En 2000, le gouvernement fédéral charge la Société royale du Canada d'étudier le système de réglementation des OGM. Son rapport, publié un an plus tard, est très critique. Il recommande, entre autres, la mise en place de l'étiquetage obligatoire. Une recommandation qui restera lettre morte.

Santé Canada considère que les aliments transgéniques qu'il a approuvés jusqu'à maintenant ne présentent pas de risque autre que ceux des aliments équivalents non transgéniques. L'organisme a choisi de concentrer son évaluation sur la qualité nutritive et la sécurité du produit final, et non sur son mode de production (hybridation, transgénèse, etc.).

Reste que d'ici 2006, le gouvernement du Québec pourrait adopter une politique rendant obligatoire l'étiquetage des OGM sur son territoire.

Des normes internationales sur l'étiquetage

Il n'y a pas encore de norme internationale en matière d'étiquetage des aliments GM. La Commission du *Codex alimentarius*, une organisation conjointe de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'Organisation mondiale de la Santé responsable d'élaborer des normes alimentaires, n'est pas encore parvenue à un consensus sur cette question épineuse⁷. On y discute du droit des consommateurs, de l'impact de l'étiquetage sur les échanges commerciaux, des coûts engendrés par l'étiquetage et des méthodes pour suivre dans le détail le parcours des OGM tout au long de la chaîne alimentaire (la traçabilité).

Les signataires du Protocole de Carthagène, une entente internationale mise en place par les Nations Unies en 2003 (signée par l'Union européenne ainsi que par 118 pays excluant le Canada et les États-Unis), estiment essentiel que les aliments GM destinés à l'alimentation humaine soient identifiés⁸. Ces recommandations n'ont toutefois pas valeur de loi.

Pour ce qui est de l'Organisation mondiale du commerce (OMC), les accords qui encadrent la circulation des produits agroalimentaires n'offrent pas de cadre réglementaire spécifique aux OGM. Toutefois, les pays producteurs d'OGM - les États-Unis en tête - voient l'étiquetage obligatoire comme une entrave importante aux échanges commerciaux. Certains pays membres de l'OMC redoutent des sanctions s'ils refusent d'acheter des produits GM. Les enjeux économiques prennent, en effet, une place extrêmement importante dans ce dossier.

À l'épicerie

Au comptoir des fruits et légumes

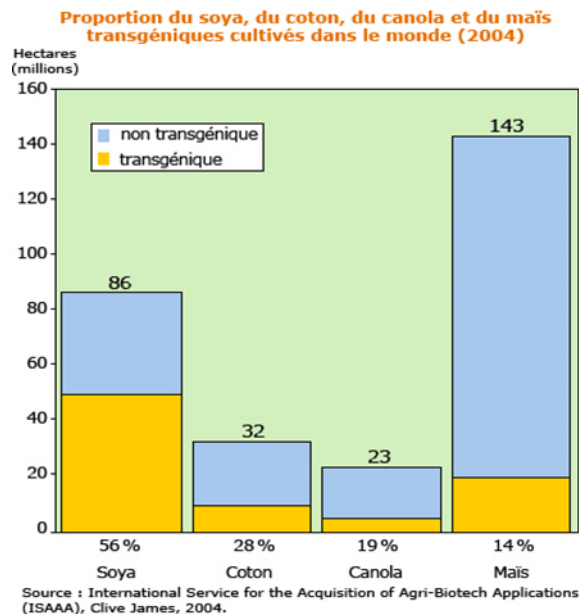
Au Canada, comme dans plusieurs autres pays, les fruits et les légumes frais ne sont pas génétiquement modifiés^{1,2}. On connaît une seule exception : il s'agit de la **papaye importée d'Hawaï**. Des papayes transgéniques qui résistent à un virus ont été conçues et sont produites à Hawaï depuis 1998. Leur commercialisation est notamment approuvée au Canada et aux États-Unis. Au moment de rédiger ce dossier, en août 2005, on ne trouvait pas de tomates, de fraises, de pommes de terre ni d'épis de maïs transgéniques. Un maïs sucré transgénique est approuvé aux États-Unis, mais pas au Canada¹.

Des pommes de terre, des tomates et des betteraves résistantes à des insectes ravageurs, de même que des courges résistantes à un virus ont déjà été approuvées à des fins de commercialisation au Canada et dans d'autres pays. Cependant, elles n'ont pas réussi à percer les marchés canadiens et américains pour diverses raisons⁶.

Au comptoir des aliments préparés

En revanche, pas moins de 70 % des aliments préparés en industrie peuvent contenir des OGM ou des ingrédients provenant d'une plante transgénique, d'après une estimation de CropLife Canada³. Cela s'explique par le fait que plusieurs produits issus du **soya**, du **maïs**, du **canola** et du **coton**, tels des farines ou du gluten, sont employés dans la production d'une foule d'aliments. Ces quatre grandes cultures sont de plus en plus cultivées avec des semences transgéniques (voir le schéma ci-dessous).

Soulignons que la proportion d'OGM que l'on trouve dans les aliments préparés est faible.



En l'absence d'étiquetage obligatoire des OGM, comme c'est le cas actuellement en Amérique du Nord, il est impossible de savoir à coup sûr quels aliments contiennent des OGM. On connaît seulement ceux qui « risquent » d'en contenir.

Les produits à surveiller : les plats cuisinés, les sauces, les pains, les pâtisseries, les biscuits, les céréales à déjeuner, les croustilles de maïs (nachos, tortillas), les vinaigrettes, les petits pots pour bébé, le beurre d'arachide et les charcuteries. Ils sont les plus susceptibles d'en contenir^{2,4,5}. Contrairement à ce qu'on peut penser, ce ne sont pas tous les ingrédients produits à partir du soya, du maïs, du coton et du canola qui sont susceptibles de renfermer des OGM. Les huiles, par exemple, n'en contiennent pas, car elles sont, à la base, exemptes de gènes et de protéines. Dans le tableau ci-dessous, ces produits figurent dans la colonne « sans OGM ». *Le Guide des aliments avec ou sans OGM* de Greenpeace dresse une liste d'aliments susceptibles de contenir ou pas des OGM (voir les Références). Notons que cette liste ne tient pas compte de cette distinction.

Tous les produits figurant dans liste ci-dessous, incluant les « sans OGM », peuvent contenir des traces infinitésimales de matériel modifié, détectables par des techniques de biologie moléculaire de pointe.

Liste de produits et d'ingrédients susceptibles de contenir ou pas des OGM

	Peuvent contenir des OGM	Sans OGM
Soya		
Boisson	X	
Farine	X	
Isoflavone		X
Lécithine		X
Sauce	X	
Tofu	X	
Maïs		
Croustilles (nachos, tortillas)	X	
Farine	X	
Fécule		X
Gluten	X	
Huile		X
Semoule	X	
Sirop		X
Canola		
Huile		X
Coton		
Huile		X

Manger sans OGM : est-ce possible?

Dans les pays où l'étiquetage n'est pas obligatoire, le meilleur moyen de ne pas manger d'aliments transgéniques est d'opter pour le bio. Selon le Conseil des appellations agroalimentaires du Québec, les principes de l'agriculture biologique - une agriculture respectueuse de l'environnement et de la santé humaine, qui utilise le moins possible d'engrais et de pesticides de synthèse - sont inconciliables avec la transgénèse parce que les effets à long terme des OGM sont peu connus¹⁴. La réglementation de l'Union européenne spécifie bien que « les OGM et/ou les produits dérivés de ces organismes ne peuvent être utilisés » dans la filière de l'agriculture biologique¹³.

Toutefois, comme tout autre produit non OGM, un aliment biologique peut subir une contamination involontaire, donc contenir des traces d'OGM. Si la quantité d'OGM dépasse les seuils établis (de 0,9 % à 5 %, selon le pays), la certification biologique est retirée et le produit sera étiqueté OGM selon les normes nationales en vigueur.

Théoriquement, aucun producteur ou distributeur (même bio) ne peut garantir que les aliments préparés qu'il vend soient « 100 % sans OGM ». D'une part, parce que la contamination est toujours possible, et d'autre part, parce que les tests servant à détecter la présence de gènes transgéniques ne sont pas suffisamment sensibles pour garantir l'absence totale d'OGM (leur limite est de 0,01 %). Lors d'une enquête menée par le journal québécois *Le Devoir*, et publiée en septembre 2003, le tiers des 12 produits certifiés biologiques contenant du maïs ou du soya contenaient des traces d'OGM¹⁵. La contamination était toutefois inférieure à 0,1 %.

Dans le cas des fruits et légumes frais, les consommateurs peuvent toujours se rabattre sur le code PLU (*Price-Look Up*) de quatre ou cinq chiffres figurant sur les étiquettes ovales. Ces codes non obligatoires sont élaborés par l'International Federation for Produce Coding, un regroupement d'associations de distributeurs de fruits et légumes. Un code débutant par le chiffre huit indique que l'aliment est issu des biotechnologies, par un trois ou un quatre, de l'agriculture conventionnelle, et par un neuf, de l'agriculture biologique.

Bibliographie

- Canola Council of Canada. [Consulté le 4 août 2005]. www.canola-council.org
- Cornell Cooperative Extension. In the market, *GEO-PIE*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.geo-pie.cornell.edu
- Cornell Cooperative Extension. Genetically Engineered Foods in the Marketplace, *GEO-PIE*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.geo-pie.cornell.edu
- Côté S. Les OGM, *Collection Protégez-vous – Guide pratique de l'alimentation*, octobre 2004.
- Fafard MC. Comment éviter les OGM?, *Opinion Canada*, vol. 7, no 6, 17 février 2005.
- Fafard MC. Étiquetage des OGM : une idée qui germe, *Opinion Canada*, vol. 7 no 7, 24 février 2005.
- Gouvernement français. Alimentation et OGM, Y a-t-il déjà des OGM dans notre assiette? - Les produits alimentaires susceptibles de contenir des OGM ou leurs dérivés, *Site interministériel sur les OGM*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.ogm.gouv.fr
- Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Utilisation actuelle, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca
- Greenpeace Canada. Dossier OGM - Guide des produits avec ou sans OGM, *Greenpeace.ca*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.greenpeace.ca
- Organisation mondiale de la Santé. Biotechnologie alimentaire moderne, santé et développement : étude à partir d'exemples concrets. Édition provisoire du 23 juin 2005. [Consulté le 28 juin 2005]. www.who.int
- Ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie (France). Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, Hygiène et sécurité des aliments - OGM : Étiquetage des denrées alimentaires et aliments pour animaux contenant des organismes génétiquement modifiés ou produits à partir de tels organismes (règlement (CE) n°1829/2003), *DGCCRF*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.finances.gouv.fr
- Société royale du Canada. Groupe d'experts sur l'avenir de la biotechnologie alimentaire. [Consulté le 30 juin 2005]. www.rsc.ca

Notes

1. Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Utilisation actuelle, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca
2. Cornell Cooperative Extension. In the market, *GEO-PIE*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.geo-pie.cornell.edu
3. CropLife Canada. Biotechnologie - Foire aux questions, *CropLife Canada*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.croplife.ca
4. Gouvernement français. Alimentation et OGM, Y a-t-il déjà des OGM dans notre assiette? - Les produits alimentaires susceptibles de contenir des OGM ou leurs dérivés, *Site interministériel sur les OGM*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.ogm.gouv.fr
5. Cornell Cooperative Extension. Genetically Engineered Foods in the Marketplace, *GEO-PIE*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.geo-pie.cornell.edu
6. site gouvernement du Québec – ogm

7. Codex alimentarius Commission. Report of the thirty-third session of the Codex committee on food labelling. Malaisie. 9-13 mai 2005. [Consulté le 29 juin 2005]. www.codexalimentarius.net
8. Sénat (France). Travaux parlementaires, Rapports législatifs - Protocole de Carthagène sur la prévention des risques biotechnologiques, *Bienvenue au Sénat*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.senat.fr
9. Option Consommateurs. Communiqués - Étiquetage obligatoire des OGM : l'opinion publique n'en démord pas, *Option Consommateurs*. [Consulté le 29 juin 2005]. www.option-consommateurs.org
10. Organisation mondiale de la Santé. Biotechnologie alimentaire moderne, santé et développement : étude à partir d'exemples concrets. Édition provisoire du 23 juin 2005. [Consulté le 28 juin 2005]. www.who.int
11. Fafard MC. Étiquetage des OGM : une idée qui germe, *Opinion Canada*, vol. 7 no. 7, 24 février 2005.
12. Ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie (France). Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, Hygiène et sécurité des aliments - OGM : Étiquetage des denrées alimentaires et aliments pour animaux contenant des organismes génétiquement modifiés ou produits à partir de tels organismes (règlement (CE) n°1829/2003), *DGCCRF*. [Consulté le 28 juin 2005]. www.finances.gouv.fr
13. Conseil des appellations agroalimentaires du Québec (CAAQ). Tout sur le bio, Normes biologiques de référence du Québec - Interdictions s'appliquant à la transgénèse et aux produits issus du génie génétique (OGM) CAAQ. [Consulté le 28 juin 2005]. www.caaq.org
14. Deglise F. Des aliments bio portent des traces d'OGM, *Le Devoir*, 3 septembre 2003.

Les aliments de demain?

OGM : des propriétés nutritionnelles améliorées?

Une nouvelle génération d'OGM s'amène. Avec des propriétés nutritionnelles améliorées, elle séduira peut-être davantage les consommateurs qui ont jusqu'ici boudé les OGM. Ces aliments transgéniques pourraient être plus nutritifs, plus sains (moins de gras et de calories) ou encore moins allergènes.

En effet, dans les laboratoires privés et publics, des chercheurs travaillent à mettre au point des aliments génétiquement modifiés qui auraient le potentiel, prévoit-on, d'améliorer la santé ou de prévenir certaines maladies. L'Organisation mondiale de la Santé reconnaît ce potentiel et croit également que « le fait d'améliorer les propriétés nutritionnelles des aliments de base que mangent les pauvres permettrait de réduire la charge de morbidité dans bon nombre de pays en développement »¹. Jusqu'à présent, les OGM commercialisés n'offraient pas de bénéfices directs pour le consommateur, mais plutôt pour le producteur agricole.

Quelques exemples possibles d'aliments transgéniques ou dérivés d'OGM

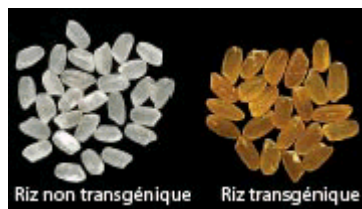
Aliments GM	Bénéfices
Riz blanc enrichi en bêta-carotène	Prévenir les problèmes de cécité, les maladies infantiles et la mortalité dans les populations sous-alimentées en combattant les carences en vitamine A.
Huiles végétales contenant un meilleur profil lipidique	Prévenir les maladies cardiovasculaires.
Tomates enrichies en lycopène	Prévenir certains cancers. (Le lycopène est un antioxydant qui donne à la tomate sa couleur.)
Riz et blé enrichis en fer ou en zinc	Prévenir l'anémie (fer) et certains problèmes oculaires (zinc) causés par une carence en ces minéraux.
Arachides, soya et riz hypoallergènes	Offrir une alimentation non allergène aux personnes ayant des allergies alimentaires.
Pommes de terre qui absorbent moins le gras de friture	Prévenir les maladies cardiovasculaires.
Pommes de terre au profil protéique amélioré	Offrir des pommes de terre plus nutritives.
Lait moins riche en lactose*	Mieux digérer le lait pour les gens intolérants au lactose.
Viandes moins grasses*	Prévenir les maladies cardiovasculaires.

*Par une modification génétique de l'animal

N.B. : Les aliments en haut de la liste sont les plus avancés au point de vue de la recherche et du développement.

L'exemple du riz doré

Le riz doré ou *golden rice*, un riz blanc décortiqué transgénique, a beaucoup fait parler de lui ces dernières années. Il sera fort probablement le premier aliment génétiquement modifié destiné aux humains à être commercialisé. L'ajout de gènes fait en sorte qu'il contient du bêta-carotène, un précurseur de la vitamine A, qui n'est normalement pas présent dans le riz. Avec ce riz, on espère réduire les conséquences des carences alimentaires en vitamine A (cécité, maladies infantiles, mortalité) dans les populations sous-alimentées –les enfants surtout- au sein desquelles le riz blanc occupe une place importante, notamment en Afrique et en Asie.



Source : www.nature.com

Plusieurs organismes qui s'opposent aux OGM se questionnent sur la pertinence de ce moyen. Ils souhaiteraient plutôt que les efforts d'aide internationale se concentrent sur la mise en place de politiques globales pour lutter contre la malnutrition.

Rappelons que ce riz a initialement été critiqué pour la faible quantité de bêta-carotène qu'il contenait. Or, cette critique est maintenant désuète. En effet, une étude³ publiée en 2005 indique qu'on parvient maintenant à obtenir 37 microgrammes de caroténoïdes par gramme de riz sec. Ainsi, une tasse de riz doré cuit fournirait environ 600 µg de vitamine A. Cela correspond à peu près à l'apport quotidien recommandé pour une femme, aux deux tiers pour un homme et, au-delà ou en totalité, pour les enfants de moins de 13 ans (de 300 µg à 600 µg par jour selon l'apport quotidien recommandé).

Du labo aux consommateurs : la route est longue

Quand arriveront-ils sur le marché, ces nouveaux OGM?

Difficile à dire, car ces aliments ne seront pas tous commercialisés. Certains OGM ne servent qu'à la recherche. Ce fut le cas des fraises transgéniques plus résistantes au froid auxquelles des gènes de poisson avaient été ajoutés : elles ne sont jamais sorties des laboratoires.

D'autres seront approuvés par les instances gouvernementales à des fins de commerce, mais ne parviendront pas à percer le marché. Bref, la population ne goûtera pas à toutes les innovations dont elle entend parler dans les médias. Malgré tout, des aliments améliorés par transgénèse pourraient être approuvés pour commercialisation dès 2006, d'après D^r Marc Fortin, chercheur en génétique moléculaire à l'Université McGill.

En somme, la mise en marché des nouveaux OGM est grandement dépendante des facteurs suivants :

- **Le choix des consommateurs.** Sans acheteur, un produit n'a aucun avenir. Ce fut le cas des tomates Flavr Savr^{®4}, qui se conservaient plus longtemps grâce à une modification génétique retardant leur mûrissement. Or, elles furent retirées du marché après deux ans, boudées par les consommateurs : leur goût était étrange, leur peau, molle, et leur coût, élevé. Mentionnons également le cas de la pomme de terre transgénique New Leaf[®] résistante au doryphore, un insecte nuisible. McCain's, le géant de la frite surgelée, a refusé de s'approvisionner en pommes de terre transgéniques, craignant une réaction négative des consommateurs. Cette décision a tué dans l'oeuf toute possibilité de commercialisation au Canada.
Faire des choix éclairés? Encore faut-il que le consommateur puisse identifier quels sont les produits OGM sur les tablettes des commerçants. C'est pourquoi plusieurs groupes de consommateurs réclament des normes d'étiquetage obligatoire à l'échelle internationale.
- **Les pressions des pays importateurs.** L'exemple du blé transgénique tolérant à un herbicide (le Round-up[®]), créé par Monsanto, démontre bien l'effet des pressions des marchés sur le commerce des OGM. Puisque les grands pays

importateurs de blé refusaient d'acheter le blé transgénique, Monsanto a décidé d'interrompre les procédures d'approbation.

- **Les coûts de la recherche et du développement.** Parfois, il arrive que le marché anticipé pour un aliment soit trop petit pour absorber les coûts élevés liés à la recherche et au développement d'aliments transgéniques. Les processus d'homologation peuvent aussi allonger les délais de mise en marché. C'est le cas des aliments dont on a modifié la valeur nutritive; certaines règles spéciales doivent alors s'appliquer. Par ailleurs, une poignée d'entreprises possèdent les licences sur leurs technologies et les traits génétiques modifiés. Cela restreint l'expansion du secteur des OGM aux mains de ces grands joueurs.
- **La force des traditions.** Des gens du milieu de l'agriculture paysanne, mais aussi de l'agriculture commerciale, tiennent à leur mode de production et à leurs variétés de semences. Certains s'adressent aux instances gouvernementales locales et internationales afin de défendre leurs intérêts.

L'avis d'une nutritionniste

Nous avons demandé à la diététiste-nutritionniste Louise Lambert-Lagacé ce qu'elle pense des aliments améliorés par transgénèse.

- **Manque de preuves sécuritaires**
« Les grandes inquiétudes face aux OGM concernent leur sécurité. Tant qu'on n'aura pas démontré que la consommation d'OGM est sécuritaire à toutes les périodes de la vie, soyons prudents. À ma connaissance, il n'y a pas eu d'études ayant vérifié l'effet de ces aliments à court et à long terme sur des organismes vivants. Et je préfère qu'on les teste d'abord sur des animaux! Je n'ai eu connaissance que d'une seule étude faite sur des rats ayant consommé des pommes de terre génétiquement modifiées, dont les résultats n'étaient guère rassurants. Les scientifiques nous disent que depuis que les OGM sont sur le marché, aucun effet majeur n'a été rapporté. Ce n'est pas une preuve d'innocuité suffisante, considérant qu'on n'en consomme pas encore. »
- **Il y a d'autres façons d'enrichir les aliments**
« Nous sommes dans une ère d'amélioration des aliments. Plusieurs aliments enrichis ont démontré qu'ils peuvent être utiles. Le lait enrichi en vitamine D a presque éliminé le rachitisme, le sel enrichi en iode a diminué les problèmes de thyroïde, et la farine enrichie en fer, les problèmes d'anémie. Pour les produire, on n'a pas eu recours à des manipulations génétiques. Continuons d'utiliser les autres méthodes à notre disposition pour améliorer les aliments [NDLR : par exemple par hybridation ou croisement]. »
Pas une nécessité pour les consommateurs
- « Nous sommes en train de vivre une sorte de science-fiction. On possède l'extraordinaire pouvoir de modifier les aliments à la carte. La transgénèse est une technologie franchement extraordinaire pour la communauté scientifique, mais qu'apporte-t-elle aux consommateurs? Plusieurs questions demeurent

sans réponse. Présentement, rien ne me permet d'affirmer que les aliments génétiquement modifiés sont avantageux pour les consommateurs. »

Bibliographie

Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Publications. Colloques - OGM et alimentation : peut-on évaluer les bénéfices pour la santé?, Afssa. [Consulté le 30 juin 2005]. www.afssa.fr

CropLife Canada. Centre de ressources - biotechnologies, *CropLife Canada*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.cropro.org

Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés, Information générale - Utilisation potentielle des OGM, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca

National Library of Medicine (Ed). PubMed, NCBI. [Consulté le 30 juin 2005]. www.ncbi.nlm.nih.gov

Organisation mondiale de la Santé. Biotechnologie alimentaire moderne, santé et développement : étude à partir d'exemples concrets. Département de la sécurité alimentaire des aliments, 23 juin 2005, OMS. [Consulté le 30 juin 2005]. www.who.int

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Les organismes génétiquement modifiés : les consommateurs, la sécurité des aliments et l'environnement, 2001, FAO. [Consulté le 30 juin 2005]. www.fao.org

Santé Canada. Protection de la santé, Biotechnologies - Aliments génétiquement modifiés et autres aliment nouveaux, *Santé Canada*. [Consulté le 30 juin 2005]. www.hc-sc.gc.ca

Notes

1. Organisation mondiale de la Santé. Biotechnologie alimentaire moderne, santé et développement : étude à partir d'exemples concrets. Département de la sécurité alimentaire des aliments, 23 juin 2005, OMS. [Consulté le 30 juin 2005]. www.who.int
2. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Publications. Colloques - OGM et alimentation : peut-on évaluer les bénéfices pour la santé?, Afssa. [Consulté le 30 juin 2005]. www.afssa.fr
3. Paine JA, Shipton CA, et al. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nat Biotechnol*. 2005 Apr;23(4):482-7. Epub 2005 Mar 27.
4. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Les organismes génétiquement modifiés : les consommateurs, la sécurité des aliments et l'environnement, 2001, FAO. [Consulté le 30 juin 2005]. www.fao.org

Dangereux pour la santé, les OGM ?

Les sujets d'inquiétude

La grande majorité de la population craint les OGM. Depuis l'introduction de divers OGM dans la chaîne alimentaire, plusieurs observateurs, organismes et groupes de consommateurs ont en effet exprimé des inquiétudes concernant les risques que représentent ces pratiques pour la santé humaine. Les principaux enjeux sont :

- la toxicité;
- l'effet des herbicides;
- la résistance aux antibiotiques.

La toxicité

Toute modification dans le code génétique d'un organisme peut entraîner des effets imprévisibles. Par exemple, une pomme de terre transgénique pourrait devenir impropre à la consommation parce qu'elle aurait développé un caractère toxique, au coeur de ses cellules. Que des OGM provoquent de l'hypersensibilité, de l'intolérance ou des réactions immunologiques les plus dangereuses demeure aussi possible chez ceux qui les consomment ou qui les manipulent.

Les tests d'innocuité devraient, en principe, empêcher que de tels produits soient mis sur le marché. On cite souvent le cas du soya dont on a voulu améliorer la capacité de conservation. Dans cette variété de soya destinée au bétail, on a inséré un gène qui présentait les qualités souhaitées. Il avait été prélevé de la noix du Brésil, un aliment allergène pour certaines personnes. Les tests ont montré que le gène provenant de la noix du Brésil correspondait à son principal allergène. La recherche sur ce soya a donc été interrompue, par conséquent il n'a pas été commercialisé^{13,14}.

Les tests permettent d'identifier la présence d'allergènes connus. Par contre, on ne possède pas de test qui permette de déterminer avec certitude la présence de nouveaux allergènes qui pourraient être créés, sans le vouloir, par des manipulations génétiques.

Études expérimentales : rien de concluant?

- Les rares données de toxicité divulguées provenant d'études sur des animaux n'étaient guère rassurantes pour la population. En 2004, par exemple, la Commission du génie biomoléculaire (CGB) a voulu en savoir plus sur le maïs MON 863. Avant toute autorisation, l'organisme consultatif européen est chargé d'évaluer, au cas par cas, les risques pour la santé publique et l'environnement liés à la dissémination d'OGM. Il a exigé que Monsanto divulgue son étude de toxicologie sur des rats avant la mise en marché, en Europe, de son maïs MON 863. Destiné à la consommation animale, ce maïs transgénique résiste à la chrysomèle, un insecte nuisible. Les résultats indiquaient des variations significatives quant au poids des rats et à la taille de leurs reins, entre les rats nourris avec du maïs conventionnel et ceux nourris avec du MON 863¹⁵. Cependant, la CGB considère que les données fournies ne permettent pas de conclure à un effet toxique²¹. Une étude

subséquente du même genre, commandée par le CGB auprès de Monsanto, indique qu'il s'agit de variations naturelles²¹. Ce maïs est homologué et distribué au Canada depuis 2003. Son usage demeure très marginal au Québec¹⁶. (Voir Les études sur les OGM : plus de transparence, dans notre nouvelle du 5 juillet 2005)

- L'autre cas est la fameuse affaire Pusztai¹⁹, mise au jour en février 1999 dans le quotidien torontois *The Globe and Mail*. Arpad Pusztai, un chercheur de Grande-Bretagne, avait détecté des effets indésirables sur la santé des rats ayant consommé des pommes de terre génétiquement modifiées (qui n'ont pas été commercialisées par la suite). Ces résultats ont été remis en question par la communauté scientifique en raison d'importantes failles méthodologiques.

L'effet des herbicides

Plusieurs semences OGM sont élaborées précisément pour résister aux herbicides à large spectre de la famille des organophosphorés (dont le glyphosate, mieux connu sous le nom de Roundup® de Monsanto). À la différence de certains herbicides spécifiques, les organophosphorés s'attaquent à toutes les plantes. Bien que l'épandage de tout agent chimique puisse causer des effets néfastes sur la santé des populations environnantes, les scientifiques s'entendent pour dire que cette famille d'herbicides est la plus sécuritaire. Ils sont peu toxiques pour les êtres vivants et non persistants.

Néanmoins, plusieurs opposants aux OGM demeurent sceptiques face à l'innocuité du glyphosate. Ils se méfient de la multinationale Monsanto qui, rappelons-le, a commercialisé les BPC (biphényles polychlorés) et l'agent orange; ces deux produits hautement toxiques²⁰ ont déjà provoqué des catastrophes écologiques et humaines.

La résistance aux antibiotiques

Dans le processus de fabrication d'un OGM, il était courant d'incorporer un gène de résistance aux antibiotiques qui servait de « marqueur ». Grâce à lui, on pouvait vérifier si la transgénèse était réussie ou pas. L'hypothèse a été avancée que des gènes dits résistants pourraient se répandre dans la nature et se transmettre aux micro-organismes présents dans notre système digestif, en conséquence de quoi l'organisme humain pourrait plus difficilement être soigné avec les antibiotiques utilisés en médecine.

Aujourd'hui, une législation de l'Union européenne interdit l'utilisation d'un gène de résistance aux antibiotiques dans la fabrication des OGM distribués sur son territoire¹⁸. La technique serait d'ailleurs en voie d'être complètement abandonnée par l'industrie, qui a trouvé d'autres marqueurs.

Reste que plusieurs plants génétiquement modifiés produits avec un gène de résistance aux antibiotiques font maintenant partie du paysage végétal mondial. Mais, il semble que les risques pour la santé, que ce soit par l'absorption ou la dissémination de ces gènes, soient très faibles¹⁹. Des scientifiques en sont d'ailleurs venus à la conclusion que la mauvaise utilisation des médicaments antibiotiques - parce que prescrits inutilement ou interrompus avant la fin d'un traitement - posait nettement plus de danger¹⁷.

Ce qu'en disent les scientifiques

Les données scientifiques ne permettent pas de rassurer les citoyens, faute d'études réalisées chez l'humain. Bien qu'il n'y ait pas de consensus, une bonne partie de la communauté scientifique estime tout de même que les risques que représentent les OGM pour la santé sont minimes. Le discours adopté se fait rassurant.

Plusieurs observateurs et associations médicales partagent ce point de vue, notamment l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), la British Medical Association et l'American Medical Association²⁻⁶. À ce jour, notent-ils, on n'a rapporté aucun cas d'atteinte à la santé attribuable aux OGM - même si des milliards de plants transgéniques ont déjà été cultivés. Autrement dit, il n'y a pas d'évidence que les OGM soient nocifs. Mais, il ne faut pas oublier la possibilité d'effets imprévus qui seraient cumulatifs à long terme, en rapport avec l'ensemble des activités humaines, et pas seulement par l'intermédiaire de l'alimentation.

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) précise toutefois que « leur innocuité doit être évaluée au cas par cas et qu'il est impossible de se prononcer d'une manière générale sur tous les aliments transgéniques. »⁴ En effet, certains gènes peuvent être sans danger, tandis que d'autres pourraient être à l'origine de problèmes importants. Pensons aux allergies qui pourraient se déclarer à la suite de l'introduction d'un gène dans un aliment.

Selon la Société américaine de toxicologie, les OGM sont comparables à n'importe quel aliment créé selon les méthodes traditionnelles, du moins en ce qui a trait à leur potentiel toxicologique. « Les données actuelles, affirme-t-elle, indiquent que les impacts négatifs sur la santé susceptibles de se manifester avec des aliments génétiquement modifiés ne sont pas différents de ceux qui peuvent advenir avec des aliments créés de manière conventionnelle — par hybridation, croisement ou ajout microbien —, effets qui sont déjà connus des toxicologues. »¹

L'avis d'un expert

François Belzile, professeur titulaire au Département de phytologie de l'Université Laval à Québec, se prononce sur différents aspects du débat.

Les risques : très hypothétiques

« Tous les risques évoqués sont hypothétiques. Je suis pour une évaluation transparente et indépendante de la sécurité des OGM. Les grandes études menées par les académiciens ne relatent aucun problème particulier lié aux plantes transgéniques. Aucun cas d'effet néfaste chez l'humain n'a été rapporté. On ne doit pas oublier que les risques ne sont pas uniques à ces plantes, mais communs à tous les aliments. Est-ce sécuritaire de manger des tomates? On n'a jamais testé l'effet de la consommation de tomates pendant 30 ans chez les humains. N'exigeons pas des critères de sécurité pour les OGM qui dépassent ce que la science est en mesure d'évaluer. »

L'utilisation d'herbicides et d'insecticides

« L'utilisation d'herbicides et d'insecticides sur les fruits et légumes suscite des craintes déplacées dans la population. À titre de comparaison, nous ingérons plus d'éléments cancérigènes dans une seule tasse de café (non biologique) qu'avec tous les aliments traités aux pesticides que nous consommons dans une année! Il serait ridicule de manger moins de fruits et de légumes à cause de cette crainte, compte tenu de tous leurs bienfaits pour la santé. »

Les aliments transgéniques enrichis : pas très utiles

« Disons que les aliments enrichis par transgénèse ne sont pas l'invention du siècle! Une alimentation diversifiée et équilibrée permet de combler nos besoins. Je ne suis pas très chaud à l'idée de recourir à ce type d'aliments améliorés puisque nous avons accès, dans les sociétés plus riches, à une grande variété d'aliments. Dans certains contextes, par contre, ils peuvent être intéressants. Pour pallier une carence alimentaire chez une population dont l'alimentation repose sur une faible variété d'aliments, par exemple. Je pense notamment au riz doré. »

La difficile évaluation des risques

Après la dissémination de milliards de plants transgéniques dans la nature, on ne déplore aucun cas d'atteinte à la santé humaine, du moins aucun cas évident. Soit, mais cela ne règle pas la question des risques.

Plusieurs observateurs s'inquiètent du manque de rigueur et de transparence des processus de supervision et de contrôle. En juillet 2005, sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec, on peut lire : « L'absence de recherches indépendantes et accessibles sur l'innocuité des AGM [aliments génétiquement modifiés] empêche l'évaluation adéquate des risques à la santé. »⁷

Le problème de l'évaluation « adéquate » se situe sur plusieurs plans :

- Le fait que les entreprises de biotechnologie testent elles-mêmes leurs propres produits.
- Le fait que les tests présentement utilisés aient été créés pour des aliments conventionnels et que les méthodes pour évaluer les risques imprévisibles des OGM soient encore en cours d'expérimentation⁸.
- Le fait qu'il n'y ait pas d'études, et donc pas de données, concernant les effets chez l'humain, la majorité des tests se faisant en laboratoire, in vitro et sur des animaux.

Toutes sortes d'erreurs humaines peuvent intervenir et causer des phénomènes indésirables, que ce soit au moment de la manipulation, du transport, du stockage, etc. En 2000, aux États-Unis, c'est en raison d'un incident du genre^{22,23} qu'on a retrouvé des traces d'une variété de maïs Bt, alors réservée à l'alimentation animale, dans des aliments à base de maïs pour consommation humaine.

Le risque zéro n'existe pas dans le monde alimentaire⁹, plaide Bruce Chassy, chercheur au Département des sciences de l'alimentation et de la nutrition à l'Université de l'Illinois, aux États-Unis. Il serait donc illusoire de penser que les aliments issus de la biotechnologie puissent, eux, ne présenter aucun risque. D'après lui, l'objectif premier est de produire des aliments qui ne comportent aucun risque nouveau, différent ou inhabituel; le degré de risque doit être maintenu sous un seuil acceptable. De plus, croit-il, en matière d'alimentation, d'autres risques pour la santé humaine sont beaucoup plus nombreux et plus concrets, ne serait-ce que les empoisonnements alimentaires et la malnutrition.

Niveau de risque = probabilité X gravité

Voilà l'équation que posent les scientifiques pour évaluer les risques potentiels d'un produit ou d'un phénomène. Ils font des corrélations de données concernant à la fois la probabilité qu'un événement non voulu se produise et la gravité relative de cette conséquence indésirable.

Pour donner une image du rapport entre les deux notions, prenons le cas du virus Ebola, dont les foyers d'infection se limitent à l'Afrique. La gravité d'une infection par le virus Ebola a beau être énorme, la probabilité qu'un Montréalais, qui ne voyage pas en Afrique, en soit infecté est si minime qu'on parlerait, dans ce cas, de niveau de risque extrêmement faible.

L'évaluation de l'innocuité d'un OGM est un processus complexe et laborieux. Comme test ultime, il doit mettre dans la balance le niveau de risque, d'un côté et, de l'autre, les avantages pour l'humanité.

Le contrôle de la sécurité sanitaire

En regard de leur responsabilité dans le dossier des OGM, plusieurs organismes publics reconnaissent la nécessité de respecter ce qu'on appelle le « principe de précaution ». Selon ce principe, il s'agit d'interdire un produit lorsqu'il existe des raisons suffisantes de croire que ce produit risque de causer des dommages graves et irréversibles à la santé ou à l'environnement, et ce, même si la preuve formelle d'un lien de cause à effet entre ce produit et les conséquences redoutées n'a pu être établie de manière irréfutable.

Lorsqu'une entreprise de biotechnologie prévoit mettre en marché un OGM, elle doit faire une demande à l'autorité compétente dans le pays où sera diffusé l'OGM, en y incluant une évaluation des risques pour la santé et l'environnement.

Au Canada, le ministère fédéral de la Santé (Santé Canada) établit les normes et politiques relatives à la diffusion des aliments nouveaux, OGM ou pas, et accorde l'autorisation de mise en marché d'un produit transgénique à des fins alimentaires chez l'être humain. Pour les aliments destinés au bétail et les essais en champs de plantes transgéniques, la responsabilité revient à l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA).

Aux États-Unis, le mécanisme est assuré par trois organismes : la Food and Drug Administration (FDA), l'Environmental Protection Agency (EPA) et le United States

Department of Agriculture (USDA), et chaque nouveau produit doit franchir neuf étapes de vérification, processus qui prend de sept ans à dix ans⁹.

En Europe, chaque pays membre de l'Union européenne possède son laboratoire de contrôle national, sous la coordination du Centre commun de recherche de la Commission européenne (CCR). Selon un avis émis à Bruxelles le 29 avril 2004 : « Des procédures nouvelles et plus sévères d'approbation de la culture et de l'importation ou de l'utilisation de denrées alimentaires et d'ingrédients contenant des OGM viendront renforcer les mesures actuelles [...]. Avec ces procédures, les règles communautaires seront parmi les plus strictes du monde et elles s'appliqueront de manière contraignante à tous les États membres. »¹⁰

Les premières normes internationales relatives à la sécurité des aliments génétiquement modifiés sont entrées en vigueur en 2003. Il s'agit de « principes » rédigés par des experts pour la Commission du Codex Alimentarius¹¹, organe de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). Divers organismes internationaux, dont l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE)¹², ont également élaboré des instruments juridiques de contrôle dans ce domaine.

Bibliographie

- American Medical Association. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ama-assn.org
- British Medical Association. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.bma.org.uk
- Commission du Codex Alimentarius. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.codexalimentarius.net
- Commission européenne, Référence IP/04/560 : Détection des OGM. [Consulté le 15 juillet 2005]. <http://europa.eu.int>
- Extenso - Centre de référence sur la nutrition humaine. Pleins feux sur les OGM, Extenso. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.extenso.org
- Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Impacts sur la santé, Ogm.gouv.qc.ca. [Consulté le 17 juin 2005.] www.ogm.gouv.qc.ca
- Institut national de santé publique du Québec. Aliments génétiquement modifiés et santé publique. Document synthèse. Octobre 2001, page 32. [Consulté le 17 juin 2005.] www.inspq.qc.ca
- National Library of Medicine (Ed). PubMed, NCBI. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ncbi.nlm.nih.gov
- OCDE - Organisation de coopération et de développement économiques. Biotechnologie. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.oecd.org
- Organisation Mondiale de la Santé. Thèmes de santé, Aliments génétiquement modifiés - Vingt questions sur les aliments transgéniques, OMS. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.who.int
- Santé Canada, Direction générale des produits de santé et des aliments - Les questions les plus demandées : Biotechnologies et aliments génétiquement modifiés, *Santé Canada*. [Consulté le 15 juillet 2005]. www.hc-sc.gc.ca

Notes

1. Hollingworth RM, Bjeldanes LF, Bolger M, et al., Society of Toxicology ad hoc Working Group, Michigan State University, USA. *The safety of genetically modified foods produced through biotechnology*. *Toxicol Sci*. 2003 Jan;71(1):2-8. Étude synthèse.

2. Jean-François Laliberté, Ph.D., directeur du programme du doctorat en virologie et immunologie de l'Institut national de la recherche scientifique (INRS). Cité sur le Centre de référence de la nutrition humaine de l'Université de Montréal. [Consulté le 17 juin 2005] www.extenso.org
3. Helm RM. *Food biotechnology : is this good or bad? Implications to allergic diseases*. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003 Jun;90(6 Suppl 3):90-8. Synthèse d'études.
4. Organisation Mondiale de la Santé. Thèmes de santé, Aliments génétiquement modifiés - Vingt questions sur les aliments transgéniques, OMS. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.who.int
5. British Medical Association. Genetically modified foods and health : a second interim statement (mars 2004), BMA. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.bma.org.uk
6. American Medical Association. Featured CSA Report: Genetically Modified Crops and Foods (1-00), AMA. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ama-assn.org
7. Institut national de santé publique du Québec. Aliments génétiquement modifiés et santé publique. Document synthèse. Octobre 2001, page 32. [Consulté le 17 juin 2005.] www.inspq.qc.ca
8. Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Impacts sur la santé, Ogm.gouv.qc.ca. [Consulté le 17 juin 2005.] www.ogm.gouv.qc.ca
9. Chassy BM. *Food safety evaluation of crops produced through biotechnology*. *J Am Coll Nutr*. 2002 Jun;21(3 Suppl):166S-173S. Synthèse d'études. Article disponible en entier : www.jacn.org
10. Commission européenne, Référence IP/04/560 : Détection des OGM. [Consulté le 15 juillet 2005]. <http://europa.eu.int>
11. Commission du Codex Alimentarius. Principes pour l'analyse des risques présentés par les aliments dérivés de la biotechnologie moderne. FAO/OMS, Rome, 2003. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.codexalimentarius.net
12. OCDE - Organisation de coopération et de développement économiques. Biotechnologie. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.oecd.org
13. Santé Canada, Direction générale des produits de santé et des aliments - Les questions les plus demandées : Biotechnologies et aliments génétiquement modifiés, *Santé Canada*. [Consulté le 15 juillet 2005]. www.hc-sc.gc.ca
14. Nordlee, J.S., Taylor, S, et al. *Identification of a brazil-nut allergen in transgenic soybeans*. *New England J.Med*. 1996. 334:688-692.
15. Greenpeace. Document d'information : MON863 (Juin 2005). [Consulté le 20 juillet 2005]. <http://eu.greenpeace.org>
16. Deglise F. Un OGM potentiellement dangereux est vendu au Canada, *Le Devoir*, 23 juin 2005.
17. François Belzile, professeur titulaire au Département de phytologie de l'Université Laval (Québec). Entrevue, 17 juin 2005.
18. La directive 2001/18 du Conseil de l'Union Européenne est en vigueur depuis octobre 2002. Son article 4 prévoit d'éliminer progressivement des OGM les marqueurs de résistance aux antibiotiques qui sont susceptibles d'avoir des effets préjudiciables sur la santé humaine et l'environnement, d'ici le 31 décembre 2004 dans le cas des OGM mis sur le marché conformément à la partie C et d'ici le 31 décembre 2008 dans le cas des OGM autorisés en vertu de la partie B.
19. Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Impacts sur la santé, Ogm.gouv.qc.ca. [Consulté le 17 juin 2005] www.ogm.gouv.qc.ca
20. Hepburn J. *Imagine food without pesticides seeds without patents a future without Monsanto*, *The Ecologist*, 1^{er} septembre 2004.
21. Gouvernement de la France. Expérimentations en France, La Commission du Génie Biomoléculaire - Avis émis par la CGB, Séances du 22 juin 2004 et du 23 novembre 2004,

Ogm.gouv.fr. [Consulté le 5 août 2005]. www.ogm.gouv.fr

22. Greenpeace Canada. Dossier OGM - Pollution génétique, *Greenpeace.ca*. [Consulté le 18 août 2005]. www.greenpeace.ca

23. CBS Worldwide Inc. Products Made With Starlink, *CBS News*, 2 novembre 2000.

Les risques pour l'environnement

Dans une approche globale de santé, il est important de soulever la question de l'environnement. Tandis que les entreprises de biotechnologie affirment que les OGM permettent de favoriser un mode d'agriculture moins polluant, leur dissémination dans la nature suscite beaucoup d'inquiétudes. On craint surtout :

- la contamination génétique d'autres organismes vivants;
- une augmentation de la résistance aux pesticides chimiques;
- un appauvrissement de la biodiversité.

Une responsabilité collective?

Cela fera bientôt dix ans que des cultures transgéniques sont cultivées à des fins commerciales. Si, pour l'instant, aucune catastrophe alimentaire ou environnementale n'a été reliée aux OGM, beaucoup d'aspects n'ont pas encore été évalués. Les effets cumulatifs à long terme des cultures transgéniques sont totalement inconnus. D'ailleurs, le nombre de variables en cause ne fait qu'entretenir les incertitudes.

On ne connaît pas, par exemple, quels sont leurs effets sur les micro-organismes et les invertébrés des sols et des eaux. On ne sait pas non plus si les OGM pourraient devenir des réservoirs de maladies ou contribuer au transfert de maladies à des espèces indigènes¹. Certains observateurs croient que, pour que la culture d'OGM ne constitue pas une « grave et irréversible irresponsabilité écologique », elle devrait avoir lieu en milieu confiné².

Les citoyens et les groupes de pression continuent de réclamer que les instances gouvernementales exercent un contrôle plus serré sur les entreprises utilisant la biotechnologie. Ils dénoncent le manque de célérité et de transparence des autorités dans le dossier. Selon eux, Monsanto, Sygenta, Bayer et autres ont le champ libre.

Les entreprises n'ont aucune responsabilité face aux conséquences que pourraient avoir les OGM sur l'environnement. Cela pose un problème de taille, estime la sociologue Louise Vandelac, directrice du Centre de recherche interdisciplinaire sur la biologie, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE) lié à l'Université du Québec à Montréal.

« Les OGM permettent aux agriculteurs de ne pas avoir à se soucier des problèmes d'invasion des végétaux et facilite la gestion de la main d'oeuvre, affirme la chercheuse. Mais au-delà de cela, il faut voir les enjeux sociaux soulevés par les OGM. C'est toute une philosophie qui est en jeu. »

Le **Protocole de Carthagène** sur la prévention des risques biotechnologiques, sous l'égide de la Convention sur la biodiversité de l'ONU, pourrait contribuer à un contrôle accru de la sécurité environnementale des OGM. Ce protocole international vise à créer un cadre réglementaire pour la production et les échanges commerciaux d'OGM, dans le respect des ressources naturelles et des traditions des peuples. Le protocole a été adopté en janvier 2000 et ratifié par 118 pays (excluant le Canada et les États-Unis). Les gouvernements s'inspirent de ce protocole pour élaborer leur réglementation en matière d'OGM.

La contamination génétique

Les échanges de pollen entre OGM et plantes cultivées ou sauvages, d'espèces apparentées, sont possibles même si elles se limitent à des contextes précis. Il s'agit de la préoccupation la plus importante pour plusieurs groupes environnementaux.

Le genre de contamination varie donc selon la plante transgénique et les plantes hôtes. Par exemple, le risque de pollinisation croisée entre du canola GM et diverses espèces de moutardes sauvages est élevé³. Par contre, le risque qu'un plant de betterave (*Brassica napus*) s'hybride avec son cousin le plus proche (*Brassica rapa*) a été estimé à un sur 10 000⁴. Généralement, la contamination ne présente aucun problème⁵, mais des situations indésirables peuvent arriver. On redoute, par exemple, que les plantes contaminées par des gènes de plantes tolérantes aux herbicides à large spectre deviennent plus difficiles à éradiquer à l'aide d'autres herbicides.

La contamination génétique accidentelle s'avère également une sérieuse menace pour les agricultures biologique et traditionnelle, qui utilisent des semences non GM. Greenpeace et d'autres groupes, comme Les Amis de la Terre, font des démarches pour exiger des gouvernements une législation stricte protégeant ces modes de production agricole⁶. Un autre type de contamination, qui n'implique pas de transfert de gènes cette fois, est la dissémination dans l'environnement de graines provenant de plants GM, portées par le vent.

Le risque de contamination génère énormément d'insatisfaction parmi les agriculteurs, qui n'ont aucun recours dans le cas où leurs cultures non GM se voient contaminées par des plants transgéniques provenant de cultures voisines. En effet, légalement, les entreprises n'ont aucune responsabilité environnementale et économique en cas de dommage causé par des OGM. En outre, la culture non contrôlée des OGM en champs libres compromet la possibilité de maintenir des filières non OGM pour certaines cultures.

Les pesticides

La première génération d'OGM a été conçue pour rendre l'agriculture à large échelle moins contraignante, mais aussi moins polluante. Le recours aux insecticides et aux herbicides devait diminuer. Presque dix ans après la mise en champ des premiers OGM, l'objectif a-t-il été atteint? Cela dépend de plusieurs facteurs d'après Marc Fortin, chercheur au Département de phytologie de l'Université McGill à Montréal. « Les

réductions d'herbicides, lorsqu'il y en a, varient énormément et dépendent du genre de culture, de la région et de la quantité de mauvaises herbes dans les champs », dit-il.

Reste que les recherches scientifiques publiées tendent à démontrer que, jusqu'à maintenant, l'utilisation d'insecticides et d'herbicides aurait diminué avec les semences OGM. Un document de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), paru en mai 2004, répertorie plusieurs études portant sur les impacts environnementaux de deux cultures OGM : le coton Bt (produisant un insecticide) et le soja Roundup Ready® ou RR (résistant à un herbicide)⁷.

Parmi elles, une étude publiée en 2001 indique qu'aux États-Unis, le coton Bt aurait permis de réduire d'environ 1 000 tonnes par année la quantité de pesticides utilisée. Même constat en Chine : les pulvérisations contre l'anthronome du cotonnier d'Asie ont grandement diminué. Cela a entraîné plusieurs avantages environnementaux et sanitaires, dont le recul des intoxications par les pesticides chez les ouvriers agricoles^{8,9}. Quant au soja RR, le nombre d'applications d'herbicides a diminué aux États-Unis de 1996 à 2001, tandis qu'en Argentine, il a plutôt augmenté⁷. Toutefois, les agriculteurs argentins qui cultivaient le soja transgénique ont moins eu recours à d'autres herbicides plus toxiques pour l'environnement.

Or, les OGM pourraient n'être qu'une **solution temporaire** au problème d'invasion des champs par des mauvaises herbes. En effet, certaines données laissent croire que la tendance à une réduction de l'usage des pesticides se produirait seulement durant les premières années¹⁰. L'utilisation répétée d'un seul type d'herbicide, le glyphosate (ou Roundup®), causerait l'émergence de nouvelles variétés de mauvaises herbes résistantes. Pour en venir à bout, les agriculteurs doivent alors épandre davantage de pesticides ou en utiliser d'autres. D'après l'analyse d'un groupe de scientifiques indépendants, l'Union of Concerned Scientists, formé au réputé Massachusetts Institute of Technology, à partir de l'an 2000, l'épandage de pesticides sur les cultures transgéniques s'est mis à augmenter. Au total, elles auraient nécessité l'utilisation de 122 millions de livres de pesticides de plus que les cultures non GM¹⁰. Cependant, au chapitre de la création de « super mauvaises herbes », mentionnons qu'il n'y a pas consensus dans la communauté scientifique. Certains croient cette éventualité peu probable¹¹.

À propos de la toxicité du Roundup®

Les experts indépendants s'entendent pour dire que le glyphosate, ou Roundup® de Monsanto, est le plus « vert » des herbicides de type éradiquant total. Il est vrai qu'il possède un spectre extrêmement large, puisqu'il s'attaque à toutes les plantes. Par contre, il est moins puissant en terme de toxicité, car il persiste moins longtemps dans l'environnement et est de 3 à 17 fois moins toxique que les herbicides qu'il remplace¹¹.

La biodiversité

Tel que l'affirme la FAO, « une grande variété de populations biologiquement diverses, présentes dans les écosystèmes naturels ainsi que dans les écosystèmes agricoles et à

proximité, remplissent des fonctions indispensables »¹² à l'équilibre de la nature et à la sécurité alimentaire. L'agriculture moderne, par contre, tend vers l'utilisation d'un nombre réduit d'espèces, sélectionnées pour les qualités qu'elles représentent dans une production de masse (longue conservation, par exemple), et ce, au détriment de nombreuses autres espèces (peut-être plus savoureuses ou plus nutritives). Les OGM se situent dans cette tendance productiviste et certains experts craignent qu'ils puissent en accélérer le processus.

La culture du canola printanier GM, du canola d'hiver GM et de la betterave sucrière GM s'accompagne systématiquement de l'appauvrissement de la faune et de la flore, selon une étude particulièrement exhaustive appelée Farm Scale Evaluation (FSE)¹³, menée par des scientifiques indépendants durant quatre ans pour le compte du ministère de l'Environnement de l'Angleterre. En raison du recours à des herbicides non sélectifs (le glyphosate), la quantité de plantes à fleurs et de graines qui nourrissent coccinelles, abeilles et papillons diminue. S'ensuit une raréfaction de ces insectes pollinisateurs dans le secteur cultivé. La même étude révèle toutefois que les papillons et les abeilles se trouvent en plus grand nombre dans les champs de maïs GM que dans ceux de maïs conventionnel.

Pour ce qui est des plantes Bt, modifiées pour résister à un ou quelques insectes précis, on craint qu'elles s'avèrent néfastes pour d'autres insectes bénéfiques (également menacés par l'épandage d'insecticides traditionnels) et que, parallèlement, apparaissent de nouvelles variétés d'insectes nuisibles plus résistants aux insecticides. Consommée en grande quantité, la toxine Bt (*Bacillus thuringiensis*) peut effectivement tuer des papillons. Certains scientifiques ont cependant affirmé que, dans la nature, ceux-ci ne sont pas exposés à des quantités suffisantes de Bt pour en voir les effets¹¹. En outre, il semble que le Bt se dégrade rapidement dans le sol, en quelques jours. Néanmoins, plusieurs craignent l'émergence d'insectes résistants au Bt, qui ferait perdre toute efficacité non seulement aux plantes Bt, mais aussi aux biopesticides à base de Bt. Ceux-ci sont notamment utilisés en agriculture biologique. Les pesticides à base de Bt, des produits sélectifs, biodégradables et non toxiques pour les animaux et les humains, devraient alors être remplacés par des pesticides chimiques, plus néfastes pour l'environnement et la santé humaine¹⁴.

Bibliographie

Department for Environment Food and Rural Affairs (Defra), Angleterre. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.defra.gov.uk

Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux. Besoins en matière de connaissances et de programmes, *Gouvernement du Canada*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.nwri.ca

Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés - Environnement, *OGM.gouv.qc.ca*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca

Les Amis de la Terre. Agriculture et Biotechnologies - OGM, *Les Amis de la Terre*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.amisdelaterre.org

National Library of Medicine (Ed). PubMed, NCBI. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ncbi.nlm.nih.gov

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). [Consulté le 28 juillet

2005]. www.fao.org

Secretariat of the Convention on Biological Diversity. [Consulté le 28 juillet 2005].

www.biodiv.org

Susan G. De gré ou de force, imposer les OGM, *Manière de voir*, juin-juillet 2005, p. 16.

The Royal Society. Science Issues, Reports and Statements - Genetically modified Crops for Food Use (Septembre 1998), *The Royal Society*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.royalsoc.ac.uk

Traxler G. The Economic Impact of Biotechnology-Based Technological Innovations. FAO, *Agricultural and Economics Division*. ESA Working Paper No. 04-08, mai 2004. [Consulté le 27 juillet 2005]. www.fao.org

Notes

1. Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux. Besoins en matière de connaissances et de programmes, *Gouvernement du Canada*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.nwri.ca

2. Susan G. De gré ou de force, imposer les OGM, *Manière de voir*, juin-juillet 2005, p. 16.

3. Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés, Environnement - Dispersion des gènes, OGM.gouv.qc.ca. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca

4. Scott SE et Wilkinson MJ. Transgene risk is low. *Nature*. 1998;393:320. Article décrit dans : Trewavas A, Leaver C. Is opposition to GM crops science or politics? An investigation into the arguments that GM crops pose a particular threat to the environment. *EMBO Rep*. 2001 Jun;2(6):455-9. Texte complet accessible à l'adresse suivante : www.nature.com

5. The Royal Society. Science Issues, Reports and Statements - Genetically modified Crops for Food Use (Septembre 1998), *The Royal Society*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.royalsoc.ac.uk

6. Les Amis de la Terre. Agriculture et Biotechnologies, OGM : infos et actions, La coexistence entre filière OGM et filières conventionnelle et biologique est-elle possible ? A quel prix ? Qui doit payer ? Communiqué de presse (4 mars 2003), *Les Amis de la Terre*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.amisdelaterre.org

7. Traxler G. The Economic Impact of Biotechnology-Based Technological Innovations. FAO, *Agricultural and Economics Division*. ESA Working Paper No. 04-08, mai 2004. [Consulté le 27 juillet 2005]. www.fao.org

8. Huang J, Rozelle S, Pray C, Wang Q. *Plant biotechnology in China*. *Science*. 2002 Jan 25;295(5555):674-6.

9. Pray CE, Huang J, Hu R, Rozelle S. *Five years of Bt cotton in China - the benefits continue*. *Plant J*. 2002 Aug;31(4):423-30. Données de sondage et analyse.

10. Union of Concerned Scientists. Food ans environment - Genetically Engineered Crops Use More Pesticide, *Union of Concerned Scientists*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ucsusa.org

11. Trewavas A, Leaver C. Is opposition to GM crops science or politics? An investigation into the arguments that GM crops pose a particular threat to the environment. *EMBO Rep*. 2001 Jun;2(6):455-9. Texte complet accessible à l'adresse suivante : www.nature.com

12. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Diversité biologique dans l'alimentation et l'agriculture - Comment la biodiversité est-elle utile aux écosystèmes naturels et agricoles?, FAO. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.fao.org

13. Department for Environment Food and Rural Affairs, Angleterre. Environmental Protection, Genetic Modification - Farm Scale Evaluations (FSE), *Defra*. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.defra.gov.uk

14. Gouvernement du Québec. Source d'information sur les organismes génétiquement modifiés, Environnement - Insectes résistants, OGM.gouv.qc.ca. [Consulté le 28 juillet 2005]. www.ogm.gouv.qc.ca

Ressources

Gouvernements

- Québec www.ogm.gouv.qc.ca
- Canada www.hc-sc.gc.ca
- France www.ogm.gouv.fr
- Autorité européenne de sécurité des aliments (AES/EFSA) : www.efsa.eu.int

Organisations internationales

- Codex alimentarius www.codexalimentarius.net
- Convention sur la biodiversité et Protocole de Carthagène www.biodiv.org
- Organisation mondiale de la Santé www.who.int

Organismes

- Réseau Québécois contre les Organismes Génétiquement Modifiés : <http://membres.lycos.fr>
- Inf'OGM (France) www.infogm.org
- Greenpeace International www.greenpeace.org

Groupes de recherche

- Centre de recherche interdisciplinaire sur la biologie, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE) www.cinbiose.uqam.ca
- Comité consultatif canadien de la biotechnologie <http://cbac-cccb.ca>
- Comité de Recherche et d'Information Indépendant sur le Génie Génétique (CRII-GEN) www.crii-gen.org

Entreprises

- Syngenta www.syngenta.ca
- Bayer CropScience www.bayercropscience.com
- Monsanto www.monsanto.com
- **Débat public** GM nation (Angleterre)
www.gmnation.org.uk
www.gmnation.org.uk

IX. La production de molécules biopharmaceutiques par les systèmes végétaux

Le « molecular farming » : Substances naturelles et biotechnologies

La production de biomasse comme de principes actifs d'origine végétale a présentement recours à diverses approches, non mutuellement exclusives:

La culture en plein champ

Cette méthode permet l'obtention d'une grande quantité de principes actifs lorsqu'existent des possibilités de culture à grande échelle. Ainsi la société Pierre Fabre possède des champs de *Catharanthus roseus* à Madagascar pour la production d'anticancéreux. De même, la société italienne Indena, dont l'activité est tournée à 65% vers le secteur de la fourniture de principe actif pour l'industrie pharmaceutique, indique que 60% de la matière première végétale qu'elle transforme provient de plantes cultivées. Cette société possède plus de 2400 ha de plantations.

La culture sous serres

Trois sociétés utilisent de manière commerciale ce mode de production : Plant Advanced Technology (PAT), société créée en 2005 à Nancy. La technologie de PAT est basée sur l'exsudation racinaire de principes actifs présents dans les racines. Une autre compagnie, ORF Genetics, en Islande, produit des protéines recombinantes avec de l'orge transgénique confinée en serres. Enfin, CollPlant, en Israël, est spécialisée dans la production de collagène dans des plants de tabac transgéniques.

La culture *in vitro*

1. La culture de cellules indifférenciées : Certains principes actifs d'intérêt pharmaceutique sont produits en bioréacteur par culture de cellules indifférenciées issues de plantes médicinales. Par exemple, le paclitaxel est principalement produit par Phyton Biotech (Allemagne) et Samyang Genex (Corée du Sud) par des cultures de cellules de *Taxus* depuis plus de 10 ans.
2. La culture de cellules différenciées : deux méthodes de production industrielle utilisent des tissus végétaux différenciés : les cultures racinaires (« Hairy roots ») et la culture *in vitro* de plants à partir de tissus végétaux. La technologie de culture racinaire est employée par Rootec Bioactives (Suisse) depuis 1999. Récemment, une entreprise française, Root Line Technologie, basée à Amiens a développé cette technologie pour la production de protéines recombinantes.
3. La culture *in vitro* de plants et de tissus végétaux : La société allemande BioPlanta produit dans son laboratoire de 600 m² des molécules d'intérêt pharmaceutiques en bioréacteur à partir de vitroplants, microtubercules et racines. La société Evonik Advanced Botanicals (anciennement Alkion BioPharma) produit dans son centre de production de 1000 mètres carrés à Tours des extraits et molécules

d'intérêts pour la cosmétique à partir de cellules dédifférenciées, feuilles ou de pousses. Depuis sa création, la société a travaillé sur 70 différentes espèces de plantes. Elle utilise des bioréacteurs de 50 litres en batterie pour la production industrielle et commerciale.

4. L'éllicitation des cellules végétales: Diverses stratégies d'amélioration de la productivité, incluant l'éllicitation, permettent de surmonter les limitations de rendements imposées par les systèmes de cultures cellulaires végétales. L'éllicitation est un terme étendu, utilisé pour décrire une technique qui implique l'application de molécule ou de traitements (biotique et abiotique) exogènes dans le milieu de croissance dans le but final de déclencher des réponses de défense des plantes et ainsi améliorer leur productivité en métabolites secondaires. Ces approches ont le potentiel de façonner le métabolisme des plantes et leur croissance en stimulant chimiquement les voies métaboliques ciblées ainsi que régulation des voies métaboliques et du développement.

Hussain MS, Fareed S, Ansari S, Rahman MA, Ahmad IZ, Saeed M (2012). Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *J Pharm Bioallied Sci.* 4:10-20.

Zhou ML, Zhu XM, Shao JR, Tang YX, Wu YM (2011). Production and metabolic engineering of bioactive substances in plant hairy root culture. *Appl Microbiol Biotechnol.* 90: 1229 - 1239.

Schumann A, Claus D, Gerth A, (2010). Searching for plant-derived natural products by in vitro cultivation. *Planta Medica* 12, 1200

Plants as bioreactors: Recent developments and opportunities

During the past 10 years, an exciting area of research and significant advances have emerged by the use of plants as bioreactors.



Bio-production of plant metabolites at Université Paris Sud, Orsay

Plants are now recognized as a promising bioreactor for the production of heterologous proteins such as antibodies, vaccines, antigens, enzymes, medical diagnostics proteins, industrial and pharmaceutical proteins, and nutritional supplements like minerals, vitamins, carbohydrates and biopolymers.

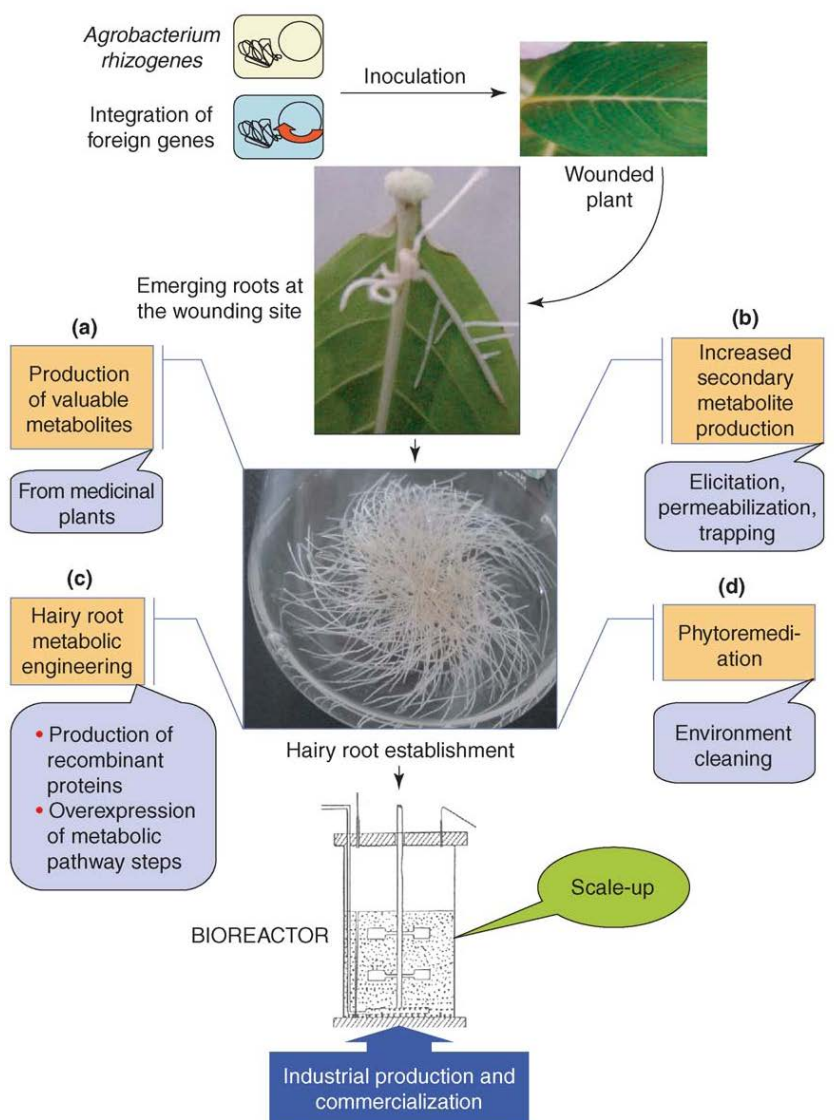
The main advantages of the plant system are the low cost of biomass production and the reduced risk of contamination by mammalian viruses and other pathogens for animal cells. The molecular farming biotechnologists have developed secretion-based systems by utilizing transgenic plant organs or cells cultivated *in vitro*. This provides a simple and inexpensive procedure for the extraction and purification of various recombinant proteins generated by large scale systems.

Furthermore, a large number of plant-derived recombinant proteins have reached advanced clinical trials. A few of these products have already been introduced in the market.

The different steps involved in the whole process of production of recombinant molecules from plants include:

1. Choice of the host species
2. Optimization of coding sequence of the target gene
3. Selection of expression cassette and creation of the expression vector
4. Integration of the gene construct into the plant genome
5. Regeneration of plants expressing the desired protein
6. Identification and stabilization of the plant line for commercial production
7. Purification and characterization of the recombinant molecule

Recently, the use of moss as bioreactor is one the major innovations in the manufacturing of biopharmaceuticals (<http://www.greenovation.com/>). Other aquatic plants and green algae (*Chlamydomonas*, *Spirodella*, *Chlorella*...) can also be used for the production of recombinant proteins.



Current Opinion in Plant Biology

Hairy root research: recent scenario and exciting prospects by Guillon *et al* Current Opinion in Plant Biology 2006, 9:341–346

Pharmaceutical product Reference	Host plant	Indication or potential application
Allergen-specific T cell epitope Yang et al. (2007)	Rice	Pollinosis
Angiotensin converting enzyme Hamamoto et al. (1993)	Tobacco, tomato,	Hypertension
Cyanovirin-N Sexton et al. (2006)	Tobacco	HIV microbicide
Glucocerebrosidase Cramer et al. (1996)	Tobacco	Gaucher's disease
Human aprotinin Zhong et al. (1999)	Maize	Trypsin inhibitor for by opiate activity
Human enkephalins Vandekerckhove et al. (1989)	Arabidopsis	Anti hyper analgesic by opiate activity
Human epidermal growth Cramer et al. (1996)	Tobacco	Wound repair and control of cell
Human erythropoietin Matsumoto et al. (1995)	Tobacco	Anemia
Human granulocyte macrophage r Lee et al. (1997)	Tobacco	Neutropenia
Human hemoglobin Giddings et al. (2000)	Tobacco	Blood substitute
Human hirudin Cramer et al. (1999)	Canola T	thrombin inhibitor
Human homotrimeric-collagen Ruggiero et al. (2000)	Tobacco	Collagen
Human interferon- α Zhu et al. (1994)	Rice Turnip	Hepatitis C and B treatment
Human lactoferrin Chong and Langridge (2000)	Potato	Antimicrobial
Human protein C Cramer et al. (1996)	Tobacco	Anticoagulant
Human serum albumin Sijmons et al. (1990)	Tobacco	Liver cirrhosis, burns, surgery
Human somatotropin Staub et al. (2000)	Tobacco	Growth hormone
Human α -1-antitrypsin Terashima et al. (1999)	Rice	C ystic fibrosis, liver disease and hemorrhage
S1 protein, vaccine Qian et al. (2008)	Rice	Hepatitis B virus
Vaccine Yang et al. (2008)	Rice	House dust mite allergy
VP2 protein Wu et al. (2007)	Rice	Bursa disease virus (IBDV)

Pharmaceutical proteins produced in transgenic plants.

Today, a large number of plant species are being used like tomato, banana, rice, maize, wheat, carrot, soybean, pea, potato, lettuce, alfalfa. But, the model system remains tobacco, which is easy to transform and manipulate.

Transgenic plant-based products commercially available in the market.

Product name	Company name	Plant system	Commercial name
Avidin	Prodigene	Corn	Avidin
β -Glucuronidase	Prodigene	Corn	GUS
Trypsin	Prodigene	Corn	TrypZean™
Recombinant human lactoferrin	Meristem Therapeutics,	Corn, rice	Lacromin™
Recombinant human lysozyme	Ventria Bioscience	Rice	Lysobac™
Aprotonin	Prodigene	Corn, tobacco	AproliZean
Recombinant lipase	Meristem Therapeutics	Corn	Merispase®
Recombinant human intrinsic factor	Cobento Biotech AS	Arabidopsis	Coban
Vaccine purification antibody	CIGB, Cuba	Tobacco	—

Sharma AK, Sharma MK Biotechnol Adv(2009),doi:10.1016/j.biotechadv.2009.06.004

Bio-molecules produced by plants

- **Vaccine antigens:** the technology of expressing antigenic determinants of various pathogens in plants was proposed for production of edible vaccines. A number of antigens have been produced and shown to activate the immune response against the antigen in the animal models. In 2006, a plant-made vaccine against Newcastle Disease received USDA regulatory process. The most relevant examples are antigenic determinants belonging to various pathogens causing diseases including bacterial and viral diarrhea, anthrax, rabies, HIV, diphtheria, tuberculosis, malaria, gastroenteritis, goat plague, cytomegalovirus infections.....produced in plants.
- **Therapeutic products:** including diagnostic proteins, antibodies and enzymes, insulin, interleukins, interferon and colony stimulating factors, biopolymers, adhesive proteins, growth factors...

The successful expression of the recombinant antibodies in plants with the concept of the molecular farming process referred as “Plantibodies”, have opened up new opportunities not only for the medical therapy but also for the applied and fundamental agronomic research (immunization of plants against pathogen infection or resistance against herbicides. Many forms of the recombinant antibodies can be produced by plants including full size recombinant antibody, chimeric antibody, secretory antibody, single chain Fv fragments(scFvs), scFv fusion, bispecific scFv, antibody fragments or heavy chain variable domains...

- **Nutritional components:** genetic engineering advances made possible to enhance the nutritional quality of the plants. By plant metabolism modification, flux redirection, manipulating multiple steps of enzyme pathways, the target nutrients include proteins, fatty acids, vitamins A, E, carotenoids, minerals like iron, zinc.... In the last few years, a lot of plants were engineered to increase accumulation of beta-carotene, lycopene, vitamins, flavonoids, polyamines, amino-acids, nutritional proteins, minerals, fatty acids and carbohydrates.
- **Industrial products:** plant molecular farming is emerging as a new industry. Plant-produced molecules are now approaching towards commercial release. In 1986, the first pharmaceutically relevant protein made in plants was human hormone produced in tobacco. Since 2003, several mammalian proteins and other industrial products have been expressed in diverse range of plant species: blood products such as human serum albumin, enzymes like gastric or pancreatic lipases, cytokines...human glucocerebrosidase (hGC), human somatotropine, human lactoferrin, human lysozyme, avidin, trypsin...Transgenic tobacco and potato plants expressing recombinant dragline silk protein were selected. Other products produced in plants which include per example hirudin, streptavidin, collagen, cyclodextrins, enzymes like phytases, amylase, laccase, beta-glucuronidase.... Biodegradable polymers as Polyhydroxyalkanoates (PHAs) or Polyhydroxybutyrates (PHBs) have been produced in different cell compartments by engineering plants and recently, the increase of the accumulation was initiated via the plastid transformation. Negative effects concern the plant growth and the metabolism in general. Further improvements in PHA production in plants are needed.

Regulatory aspects and the economic viability

Questions raised about the safety of the GMO foods in relation to environment and human health. In general, a negative opinion for transgenic plants exists among the general public and some regulatory bodies involved in research, biosafety and trade block the development in this field. Diagnostic molecules produced by molecular farming process are more realistic and some plant produced biomolecules have been commercialized.

During the last decade, a variety of approaches and a lot of developments were made concerning transgenic plants and a lot more is still needed to be done. One interesting

new approach is based in the use of plant cell culture systems growing in biofermenters, in confined environments. The use of such culture systems after innovative research and developmental activities, solve some relevant problems of the public acceptance of the GMO.

Opportunities and challenges

Recombinant biomolecules produced by plants offers many practical, economic and safety advantages. It has been estimated that the cost of plant-produced molecules may be 2-10% of microbial systems and in comparison to mammalian systems costs benefits may be up to 1000 fold!

Transgenic crops and plant-based products industry is growing fast industry now and a few dozen companies or institutions are involved in plant molecular farming research and development worldwide.

Some products are commercialized and some are undergoing clinical trials.

List of products in phase II, I or pre-clinical trials.

Product name	Company/institute name	Plant system	Reference/URL
Human serum albumin	Chlologen Inc.	Tobacco	Currently technology is with Dow AgroSciences
38C13 (scFv)	Large Scale Biology Corp.	Tobacco	http://www.lsb.com
RhinoX™	Planet Biotechnology Inc.	Tobacco	http://www.planetbiotechnology.com/
Alpha inteferon 2b	Biolex Therapeutics Inc.	Lemna	http://www.biolex.com/
DoxoRX™	Planet Biotechnology Inc.	Tobacco	http://www.planetbiotechnology.com/
α-Caries MAb (CaroX™)	Planet Biotechnology Inc.	Tobacco	http://www.planetbiotechnology.com/
Aprotonin	Large Scale Biology Corp.	Tobacco	http://www.lsb.com
Collagen	Medicago Inc.	Alfalfa	http://www2.medicago.com/en/product/
	Meristem Therapeutics	Tobacco	http://www.meristem-therapeutics.com
Lipase	Meristem Therapeutics	Maize	http://www.meristem-therapeutics.com
Lactoferrin	Meristem Therapeutics	Tobacco	http://www.meristem-therapeutics.com
	Ventria Bioscience	Rice, maize	http://www.ventriabio.com/
Lysozyme	Ventria Bioscience	Rice	http://www.ventria.com/
BLX-301 (anti-CD antibody)	Biolex Therapeutics Inc.	Lemna	http://www.biolex.com/blx301.htm
GLA rich safflower oil	Sembiosys Genetics Inc.	Sunflower	http://www.sembiosys.com/
DHA rich safflower oil	Sembiosys Genetics Inc.	Sunflower	http://www.sembiosys.com/

Human intrinsic factor	Cobento Biotech AS	Arabidopsis	http://www.cobento.com/
Human glucocerebrosidase	Protalix Biotherapeutics	Carrot cells	http://www.protalix.com/
Parvovirus vaccine	Large Scale Biology Corp.	Nicotiana	http://www.lsbcb.coma
Anti-F4 fimbriae of ETEC antibody	Novaplant	Pea	http://www.novoplant.de
Protein A reagent (Stratocapture™)	Sembiosys Genetics Inc.	Safflower	http://www.sembiosys.com/

From Sharma AK, Sharma MK Biotechnol Adv (2009), doi:10.1016/j.biotechadv.2009.06.004

Quelques aspects fondamentaux de la production de protéines recombinantes par les plantes

Pourquoi utiliser les plantes ?

La technologie de recombinaison de l'ADN a permis la production de protéines recombinantes dans des systèmes hôtes. La majorité des premiers travaux étaient orientés vers l'expression de protéines dans des cellules Procaryotes et notamment chez *Escherichia coli*. Les avantages des cellules Procaryotes en tant que systèmes de production sont : la facilité avec laquelle ils peuvent être génétiquement manipulés, une croissance rapide, un niveau élevé d'expression des protéines recombinantes et la possibilité de culture en fermenteurs, c'est-à-dire à grande échelle.

Cependant, plusieurs modifications post-traductionnelles incluant le clivage du peptide signal, la maturation de la protéine, la formation des ponts disulfures et la glycosylation ne peuvent s'effectuer chez les Procaryotes.

En conséquence, les protéines complexes produites chez les procaryotes ne présentent pas le degré d'activité biologique désiré. Ainsi les procaryotes ont généralement été employés pour produire des protéines relativement simples comme l'insuline, l'interféron ou l'hormone de croissance, car elles ne nécessitent pas de modifications post-traductionnelles complexes pour être biologiquement actives.

Les limites des cellules procaryotes pour la production de protéines d'intérêt thérapeutique ont conduit les biotechnologistes à concentrer leurs recherches sur l'utilisation de cellules hôtes Eucaryotes telles que les cellules de mammifères, d'insectes et de levures. Cependant ces systèmes peuvent présenter des inconvénients : culture relativement coûteuse, rendement peu élevé, modifications post-traductionnelles inadéquates, frais d'exploitation élevés et risques potentiels de contamination par des organismes pathogènes (virus, prions).



Exemple de programmation morphogénétique obtenue *in vitro* à partir de racines isolées de tabac mises en culture A : Milieu riche en auxine, B : Milieu riche en cytokinine, C : Milieu faiblement enrichi en auxine

Ainsi, les limitations biochimiques, techniques et économiques rencontrées avec les systèmes Procaryotes et Eucaryotes habituels, sont à l'origine de l'intérêt suscité par les nouveaux systèmes d'expression pour la production de protéines recombinantes.

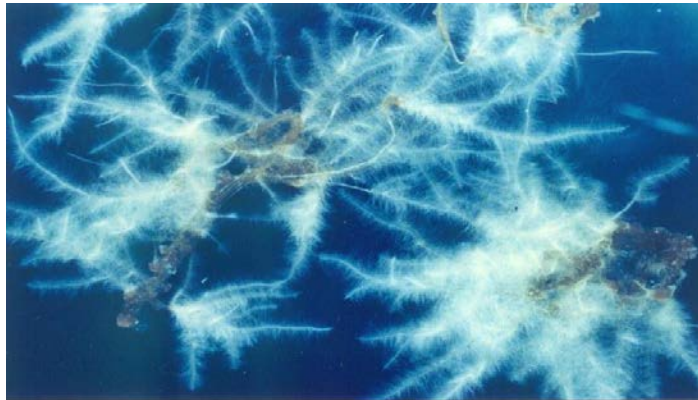
Durant ces quinze dernières années, les plantes sont apparues comme une alternative appropriée aux systèmes de production actuels.

L'essor de la Biotechnologie Végétale associé aux progrès du génie génétique et de la biologie moléculaire permet d'envisager la production à grande échelle des molécules recombinantes par les systèmes végétaux considérés comme des bioréacteurs potentiels.

Aujourd'hui, on envisage l'usage soit des plantes transgéniques entières, soit des organes et ou des cellules transformées et cultivées *in vitro* comme usines à produire des molécules, souvent des protéines à forte valeur ajoutée.

On sait que les protéines animales ou humaines dont les gènes ont été clonés et exprimés dans les bactéries ou dans les levures, ne subissent pas toujours, après leur synthèse, des modifications post-traductionnelles comme les glycosylations adéquates pour acquérir l'activité biologique. On pense que l'expression des protéines dans les plantes est suivie par des modifications post-traductionnelles les rapprochant davantage des protéines natives humaines.

Les cellules végétales comme les *hairy roots* peuvent également être cultivées dans des bioréacteurs, en conditions parfaitement contrôlées. Les protéines recombinantes ainsi produites peuvent être purifiées facilement à partir de milieu de culture d'une composition très simple, donc bon marché, ce qui peut réduire les coûts de production. Par ailleurs, les risques de contamination des cellules végétales par des virus pathogènes pour l'humain, sont très faibles, sinon inexistantes.



Exemple de production de racines de tabac en condition de culture *in vitro*

Dès 1992, des travaux pionniers avaient décrit la production d' α -amylase de *Bacillus licheniformis* dans des plantes transgéniques de tabac, et en 1995 la production d'élastomères et de plastiques biodégradables.

La production par les plantes de protéines vaccinales fait actuellement l'objet de recherches approfondies. Les récents travaux ouvrent des espoirs dans la production des « vaccins comestibles » à usage humain, contre par exemple la carie dentaire, le choléra etc..... Depuis les premiers travaux en 1989, la production d'anticorps entiers ou de fragments d'anticorps par les plantes transgéniques, pour des usages thérapeutiques, de diagnostic ou même pour la recherche fondamentale (immunomodulation par exemple) est en pleine expansion.

Les travaux pionniers datent de 1994, avec l'obtention d'anticorps fonctionnels synthétisés par les plantes et dirigés contre l'agent responsable de la carie dentaire, contre le virus de l'Herpes et contre des cellules cancéreuses. La production à grande échelle d'IgA sécrétoires recombinantes, utilisables pour développer une immunothérapie passive a aussi été envisagée.

Les facteurs limitants, souvent évoqués dans les travaux de recherche, concernent l'estimation de la quantité de protéine hétérologue produite, de sa stabilité, de son activité biologique et de son lieu de stockage.

Actuellement, l'accent est mis sur l'obtention des cultures stables des cellules productrices placées en biofermenteurs, et vers l'excrétion du produit recherché directement dans le milieu de culture.

Ces premiers succès ouvrent déjà des perspectives intéressantes car la mise en champs de ces OGM, dits de nouvelle génération, n'est plus nécessaire. De plus, la production en continu dans les biofermenteurs facilite la collecte, la purification rapide de la molécule recherchée, sans risque de contamination.

Les avantages des cellules végétales par rapport aux cellules animales et aux micro-organismes

Les systèmes de production de protéines d'intérêt pharmaceutique par les plantes entières présentent les caractéristiques et les avantages suivants :

1. **Un coût réduit de production à grande échelle.** Les coûts de fonctionnement sont sensiblement inférieurs à ceux de la production par les systèmes Procaryotes et Eukaryotes traditionnels basés sur les cellules microbiennes ou animales. On estime que les protéines recombinantes peuvent être produites grâce aux plantes pour un coût représentant 2 à 10 % de celui des systèmes microbiens et 0,1 % du coût des cultures de cellules animales. Pour n'importe quel système d'expression, le rendement est un avantage commercial important. Les systèmes de fermenteurs et les animaux transgéniques ont limité le potentiel à cet égard, tandis que le rendement grâce aux plantes peut être modulé rapidement en réponse à la demande du marché simplement en employant plus ou moins de surface agricole.
2. **Les coûts de production** d'une protéine recombinante dépendent très largement de la pureté exigée, dans la mesure où 85 % des dépenses concernent le traitement en aval, plutôt que la production elle-même. Puisque les méthodes employées sont semblables pour la purification de la protéine, indépendamment du système d'expression, les coûts de traitement sont semblables d'un bout à l'autre du système quand une grande pureté est exigée. Cependant, les plantes sont avantageuses parce que plusieurs types de protéines recombinantes peuvent être employés telles quelles ou partiellement purifiées, donc diminuant sensiblement les coûts.
3. Les cellules végétales étant des cellules Eucaryotes, disposent de ce fait des **mécanismes moléculaires** permettant de produire des protéines complexes (ayant subi les modifications post-traductionnelles) possédant les propriétés thérapeutiques exigées. Cependant, bien que la voie de synthèse des protéines soit la même chez les plantes et les animaux, il existe quelques modifications post-traductionnelles légèrement différentes, notamment en ce qui concerne la glycosylation, qui est une N-glycosylation. Les protéines humaines recombinantes se retrouvent ainsi avec des groupes de glucides absents chez les mammifères, et ne possèdent pas le galactose terminal ou les résidus acides sialiques, généralement présents sur de nombreuses glycoprotéines humaines natives.
4. Ces différences mineures peuvent changer **l'activité, la biodisponibilité, la longévité** des protéines recombinantes issues des plantes et induire des réponses allergiques chez l'homme. Cependant les épitopes d'hydrates de carbone sont rarement allergéniques. En effet, les expériences dans lesquelles on a administré à des souris des anticorps recombinants issus de plantes et présentant ces hydrates de carbone, n'ont mis en évidence aucune réaction allergique.

5. Le niveau actuel des biotechnologies végétales permet de **cibler de façon spécifique les tissus dans lesquels s'exprimera la protéine d'intérêt**. En particulier, dans le cas du maïs, la protéine peut être ciblée dans les grains de maïs, permettant un stockage efficace et facilitant l'extraction et la purification de la protéine d'intérêt. L'extension de la culture des plantes productrices avec les infrastructures agricoles existantes permet une montée en puissance rapide et économique des capacités de production. En effet, la croissance des plantes en agriculture est très bien maîtrisée, ne nécessitant qu'un sol fertile, de l'eau, du dioxyde de carbone, des apports d'engrais limités et de l'énergie solaire pour la production de grandes quantités de biomasse.
6. Il n'existe pas, en l'état actuel des connaissances, de **pathogènes végétaux** capables d'infecter l'animal et l'homme, éliminant ainsi le risque par exemple d'infection ou de contamination virale par les protéines produites par les plantes.
7. Actuellement, on admet que les plantes sont des **bioréacteurs potentiels**, aptes à produire des molécules humaines complexes. La production de protéines recombinantes par les plantes est appelée en anglais « molecular farming » ou agriculture moléculaire.

L'agriculture moléculaire végétale

L'Agriculture moléculaire végétale se définit comme l'utilisation des plantes en tant qu'usines biologiques pour l'obtention de molécules à l'échelle industrielle. C'est une évolution technologique majeure, qui fait suite à d'autres évolutions technologiques, celle qui a permis de passer de la cueillette des plantes sauvages dites médicinales à la culture des plantes en conditions contrôlées, à l'extraction et la purification des molécules d'origine naturelle, l'extension à l'hémi-synthèse, permettant d'obtenir de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique.

L'agriculture moléculaire biopharmaceutique consiste à exploiter les potentiels du génie génétique et de la biotechnologie, pour faire produire par des plantes des molécules à usage scientifique, médical ou industriel.

En effet depuis les années 1980, les meilleurs Laboratoires pharmaceutiques et Instituts de recherche du monde entier mettent au point de nouveaux médicaments dits biologiques pour soigner les cancers, l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et autres maladies graves. Or les méthodes de production actuelles ont montré leurs limites.

Certains médicaments pourraient ne jamais traiter le malade, faute de possibilité de les produire en quantités suffisantes ou de le faire à un coût raisonnable. En effet les bactéries, les levures et les cellules animales en culture sont très largement utilisées pour la production de protéines recombinantes à usage thérapeutique. Cependant, ces procédés ne sont pas assez productifs et demeurent très coûteux, notamment parce qu'ils nécessitent un contrôle rigoureux de la présence de virus pathogènes.

Les plantes transgéniques ont également ouvert une nouvelle voie de recherche dans le domaine des vaccins par voie orale. Ces plantes sont capables de délivrer des antigènes protecteurs et les études ont confirmé la faisabilité d'une vaccination par des plantes comestibles.

Comparaison des systèmes de production de protéines humaines recombinantes à usage pharmaceutique

Système	Coût total	Temps de production	Capacité de production à grande échelle	Qualité du produit	Glycosylation	Risques de contamination	Coût de stockage
Bactérie	Bas	Court	Forte	Mauvaise	Aucune	Endotoxines	Modéré
Levure	Modéré	Moyen	Forte	Moyenne	Incorrecte	Faible risque	Modéré
Culture de cellules de mammifères	Élevé	Long	Très faible	Très bonne	Correcte	Virus, prions et DNA oncogènes	Élevé
Animaux transgéniques	Élevé	Très long	Faible	Très bonne	Correcte	Virus, prions et ADN oncogènes	Élevé
Culture de cellules de plantes	Modéré	Moyen	Moyenne	Bonne	Différences mineures	Faible risque	Modéré
Plantes transgéniques	Très bas	Long	Très forte	Bonne	Différences mineures	Faible risque	Peu coûteux

Les plantes et leurs organes les plus utilisées par les principaux laboratoires développant ces technologies sont les suivantes :

Tabac	Feuilles
Luzerne	Feuilles
Maïs	Grains
Riz	Grains
Soja	Grains
Colza	Grains
Pomme de terre	Tubercules

Si l'on considère les aspects environnementaux, le tabac présente le maximum d'avantage : plante non alimentaire et incapable de se croiser avec des plantes vivant naturellement dans nos contrées. Il n'y a donc aucun risque de contamination de la chaîne alimentaire et des espèces sauvages.

Si l'on considère les aspects pharmaceutiques, le maïs et le riz présentent en revanche le plus d'intérêt, car ce sont des plantes alimentaires totalement dépourvues de métabolites toxiques.

Du point de vue technologique, il faut également prendre en compte la difficulté technique liée à l'élimination de métabolites susceptibles de gêner le processus

d'extraction et de purification de la protéine recombinante, tels que lipides, polyphénols ou autres protéines végétales.

Il faut également veiller au risque potentiel de présence de molécules toxiques, telles que pesticides ou mycotoxines, sur certaines plantes.

Polyphénols	Tabac, Luzerne
Protéines « Vertes »	Tabac, Luzerne
Lipides	Colza, Soja, Maïs
Alcaloïdes	Tabac
Pesticides	Tous, excepté Luzerne
Mycotoxines	Colza, Soja, Maïs

Métabolites et protéines toxiques chez les plantes utilisées en Agriculture Moléculaire.

Espèces	Avantages	Inconvénients
Plante modèle <i>Arabidopsis thaliana</i>	Gamme de mutants disponibles, génétique accessible, facilité de transformation.	Non utile pour la production commerciale (très faible biomasse).
Algues <i>Physcomitrella patens</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Confinement, sécrétion dans le milieu, conformité avec les directives de dissémination des OGM.	Production limitée
Feuilles Tabac Luzerne, Trèfle Laitue	Rendement élevé, technologie de transformation et d'expression maîtrisée, non alimentaire. Rendement élevé, utilisé pour produire des vaccins pour les animaux, N-glycanes homogènes (luzerne). Comestible, utilisée pour la production de vaccins humains.	Protéine peu stable dans le matériel de récolte, présence d'alcaloïdes. Protéine peu stable dans le matériel de récolte, présence d'acide oxalique. Protéine peu stable dans le matériel de récolte.
Graines de céréales Maïs, Riz Blé, Orge	Stabilité de la protéine durant le stockage, rendement élevé, facile à transformer et à manipuler. Stabilité de la protéine durant le stockage.	Faible rendement, difficile à transformer et à manipuler.
Graines de légumineuses Soja Pois	Economique, biomasse élevée, expression dans la graine. Contenu protéique élevé.	Niveau d'expression faible, difficile à transformer et à manipuler. Niveau d'expression faible.
Fruits et légumes : Pomme de terre, Carotte Tomate	Comestible, protéine stable dans les tissus de stockage. Comestible, confinement en serre.	Les pommes de terre doivent être cuisinées. Coût de développement élevé.
Oléagineux : Colza, <i>Camelina sativa</i>	Fusion avec l'oléosine	Faible rendement

Aspects génétiques de l'Agriculture Moléculaire chez les Plantes

Construction génétique

Un des objectifs majeurs de l'Agriculture Moléculaire est la production de protéines recombinantes en grandes quantités. Pour obtenir des rendements élevés, il faut optimiser toutes les étapes d'expression du transgène, depuis la transcription jusqu'à la maturation de la protéine elle-même.

Les constructions génétiques sont des structures chimériques dans lesquelles le transgène est encadré par différents éléments de régulation connus pour être actifs chez les plantes. Pour obtenir un niveau élevé de transcription, les deux éléments les plus importants sont le promoteur et le site de polyadénylation, qui sont généralement dérivés du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV).

Le promoteur CaMV 35S est aujourd'hui le choix le plus courant chez les plantes Dicotylédones, même si des promoteurs organes ou tissus « spécifiques » commencent à être utilisés. Cependant ce promoteur a une moindre activité chez les plantes Monocotylédones, pour lesquelles on lui préfère le promoteur ubiquitin-1 du maïs. La présence d'un intron non transcrit au niveau de la région 5' de la construction génique a également été démontrée comme étant efficace pour augmenter la transcription chez les Monocotylédones. Les sites de polyadénylation les plus souvent utilisés sont le transcript CaMV 35S, le gène *nos* d'*Agrobacterium tumefaciens* et le gène issu du pois.

Des promoteurs qui permettent une expression du transgène dans un environnement particulier ou encore tissus spécifique peuvent également être utiles. Par exemple, il existe de nombreux avantages à restreindre l'expression du transgène aux grains de céréales ou aux tubercules de pomme de terre en utilisant des promoteurs spécifiques. Les avantages de tels promoteurs sont d'une part une plus grande stabilité de la protéine et d'autre part qu'ils permettent d'éviter l'accumulation de la protéine dans d'autres tissus. Des promoteurs inductibles, répondant aux stimuli chimiques et physiques externes peuvent également être utilisés pour contrôler l'expression du transgène dans le temps. Par exemple le système d'activation mécanique du gène (MeGA) qui a été développé par Cramer (Crop tech Corp., Virginia, United States) emploie le promoteur Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase 2 de la tomate (HMGR) qui est inductible par un stress mécanique. L'expression du transgène est activée quand des feuilles sont cisailées durant le traitement, ce qui entraîne une expression rapide de la protéine, généralement dans les 24 heures. De nombreux autres promoteurs inductibles ont été développés (par exemple ceux utilisant l'éthanol).

Un des facteurs les plus importants régissant le rendement des protéines recombinantes est le ciblage intracellulaire, qui influe sur le processus de repliement, d'assemblage et de modifications post-traductionnelles.

Des expériences comparatives avec des anticorps recombinants ont montré que la voie de sécrétion constitue un environnement plus approprié, pour l'assemblage et la structuration, que le cytoplasme. Les protéines sont dirigées vers la voie de sécrétion en incluant un peptide signal amino-terminal dans la construction génique.

Autres facteurs influençant l'expression du transgène

L'expression du transgène est influencée par différents facteurs qui ne peuvent pas être commandés avec précision lors de la conception de la construction génique, ce qui conduit parfois à une expression variable du transgène et dans certains cas à son inactivation complète. De tels facteurs incluent la position d'intégration du transgène, la structure du locus transgénique, le nombre de copies du gène, la présence de copies du transgène tronquées ou modifiées, ainsi que les possibilités de méthylation du transgène. Plusieurs stratégies ont été adoptées afin d'essayer de réduire la variation de l'expression du transgène, y compris, le plus récemment, l'utilisation de gènes viraux qui empêchent l'extinction du transgène. Les études préliminaires ont montré que la co-transformation de plantes avec un transgène primaire et un gène viral augmentent nettement le niveau d'expression du transgène.

Modifications post-traductionnelles et purification de la protéine recombinante

La grande majorité des protéines thérapeutiques subissent plusieurs modifications post-traductionnelles, qui sont les étapes finales dans lesquelles l'information génétique d'un gène dirige la formation d'une protéine fonctionnelle.

Le terme de modification post-traductionnelle recouvre les notions de modification covalente, par exemple glycosylation, phosphorylation, méthylation, oxydation, traitement protéolytique, et de modification non enzymatique, telle que la racémisation et les changements spontanés de la conformation de la protéine.

Les protéines recombinantes doivent une bonne part de leur complexité aux modifications post-traductionnelles qu'elles subissent, notamment la glycosylation, qui est une N-glycosylation. La glycosylation est l'attachement d'une chaîne latérale d'oligosaccharide à une protéine. Cette glycosylation possède différents rôles :

- Un rôle physico-chimique : le glycan contribue à la mise en place de la structure spatiale de la protéine en influençant son repliement. Il joue sur la solubilité de la molécule et enfin il joue un rôle déterminant dans sa protection contre les attaques protéolytiques.
- Un rôle qui n'est pas directement lié à la fonction biologique de la glycoprotéine mais va la moduler grandement en contrôlant sa durée de demi-vie.
- Enfin, il est possible que le glycan porte lui-même la fonction biologique via l'interaction avec des bio-molécules cibles.

Chez les plantes comme chez les autres Eucaryotes, la N-glycosylation des protéines sécrétées a lieu de façon co-traductionnelle lors de l'élongation du peptide naissant dans la lumière du réticulum endoplasmique.

Les scientifiques ont montré que lors de la biosynthèse des N-glycanes chez la plante, l'absence de l'enzyme humaine β -galactosyltransférase ne permet pas la conversion des N-glycanes végétaux en N-glycanes « humanisés ».

Ainsi, les protéines recombinantes issues des plantes ne possèdent pas le galactose et l'acide sialique terminal. A la place, on trouve des hydrates de carbones tels que le (1-2) xylose et le (1,3) fucose pouvant leur conférer un pouvoir immunogène.

C'est dans les compartiments tardifs de l'appareil de Golgi que se produit l'ajout de ces hydrates de carbone.

Trois stratégies ont été développées pour produire des protéines recombinantes ne portant pas de glycanes immunogènes :

- La première stratégie consiste à prévenir l'addition de glycanes immunogènes en stockant la protéine thérapeutique dans le réticulum endoplasmique, en amont de l'appareil de Golgi. L'efficacité de cette stratégie a été récemment illustrée lorsqu'un anticorps portant des signaux de récupération KDEL aux extrémités carboxy-terminale de ses chaînes lourdes et légères a été exprimé dans du tabac. Cet anticorps ne présentait alors que des résidus mannose et pas de glycanes immunogènes. Cependant cet anticorps était très peu stable après injection chez la souris, sans doute à cause d'une dégradation rapide après fixation aux récepteurs mannoses.
- La seconde stratégie est basée sur l'inhibition de la glycosyltransférase dans l'appareil de Golgi. De nombreuses glycosyltransférases spécifiques des plantes (par exemple la \square (2) xylosyltransférase et l' \square (1,3)fucosyltransférase) ont été clonées ces 5 dernières années. L'élimination des gènes de la \square (2) xylosyltransférase et de l' \square (1,3)fucosyltransférase chez *Physcomitrella patens* empêche la production de glyco-épitopes spécifiques des plantes sans affecter la sécrétion de la protéine. Ces résultats ont préparé le terrain pour l'utilisation de ces stratégies d'inactivation chez les plantes supérieures.
- La dernière stratégie en cours est de faire exprimer des glycosyltransférases humaines dans les plantes, qui vont compléter et/ou entrer en compétition avec la machinerie interne de l'appareil de Golgi pour la N-glycosylation des protéines. Une équipe franco-néerlandaise a réussi à faire exprimer de façon stable la \square 1,4 galactosyltransférase humaine dans des plants de tabac. En croisant ces plants avec les plants transgéniques exprimant les chaînes lourdes et légères des anticorps, les chercheurs ont ainsi pu obtenir 30 % d'anticorps correctement glycosylés.

Pour exploiter entièrement le potentiel des plantes transgéniques pour la production de protéines thérapeutiques, il est donc nécessaire d'inhiber certaines modifications post-traductionnelles spécifiques des plantes, et de mettre en place de nouvelles modifications post-traductionnelles pour obtenir des protéines recombinantes « humanisées ».

Cependant à ce jour, il est difficile de généraliser l'importance de l'obtention des protéines recombinantes « humanisées » à partir des plantes transgéniques, de même qu'il est difficile de savoir si le mode d'administration des protéines recombinantes pouvait entraîner des différences en termes d'immuno-réaction.

Purification de la molécule recombinante : La purification de la molécule recombinante à partir de l'ensemble des protéines endogènes est le principal facteur de coût de la production biopharmaceutique. Les types d'extraction conventionnels à partir des grains en particulier sont coûteux. Lorsqu'elle est séparée de l'environnement moléculaire complexe de la cellule végétale, la protéine recombinante peut être purifiée par des méthodes traditionnelles de chromatographie ou d'électrophorèse. Ce sont les phases initiales d'extraction et de purification qui posent problèmes dans la plupart des cas, en particulier en raison de la protéolyse rapide qui a lieu dès l'homogénéisation des tissus.

Certaines stratégies de production ont été développées pour effectuer les phases initiales de purification de façon simplifiée. Par exemple chez certaines plantes oléagineuses, la protéine recombinante est fusionnée à une protéine qui fait partie des globules lipidiques, l'oléosine, qui s'accumule lors de la maturation de la graine. En combinant cette fusion avec une expression ciblée dans la graine, les chercheurs ont mis au point un système d'expression/purification simple par lequel la protéine recombinante est récupérée par centrifugation avec les lipides lors d'une première homogénéisation. Ensuite, la protéine recombinante est séparée de la fusion par protéolyse dirigée, puis de la fraction lipidique lors d'une seconde séparation de phase. Ce procédé de fusion a déjà montré son utilité dans l'obtention chez le colza d'un anticoagulant, l'hirudine.

Les techniques de l'Agriculture Moléculaire

Méthodes de transformation : Deux méthodes sont généralement employées pour générer de larges séries de plantes transgéniques pour l'agriculture moléculaire : la transformation par *Agrobacterium* et la biolistique.

Chaque méthode a ses avantages et inconvénients, et le choix d'une des deux méthodes dépend d'une combinaison de facteurs, notamment l'espèce hôte choisie, et l'expérience personnelle. Les autres méthodes telles que l'électroporation, la lipotransfection et la micro-injection n'ont jusqu'ici pas été employées pour des applications en agriculture moléculaire.

La bactérie *Agrobacterium tumefaciens* apporte une méthode simple pour la plupart des espèces Dicotylédones et est généralement utilisée en agriculture moléculaire avec le tabac, la luzerne, le pois, la tomate et la pomme de terre. Les espèces Monocotylédones peuvent également être transformées en utilisant *Agrobacterium tumefaciens*, mais dans la plupart des cas, la technologie a été optimisée pour certaines variétés.

La biolistique (canon à particules) était la méthode préférée pour la transformation des céréales comme le riz, le blé et le maïs mais aussi pour le soja et d'autres légumineuses. La transformation peut aussi se faire en utilisant *Agrobacterium rhizogenes*, mais cet organisme est plutôt utilisé pour la production en masse de racines transgéniques ou *hairy roots*.

Ces méthodes de transformation aboutissent généralement à l'introduction de séquence d'ADN additionnel dans le noyau de la plante. Dans le cas de la transformation médiée par *Agrobacterium* cela est dû au traitement inefficace des séquences bordant l'ADN-T, il en résulte un co-transfert correspondant souvent au plasmide entier.

Dans le cas de la biolistique, le transfert d'ADN superflu se produit car des plasmides entiers sont généralement utilisés pour recouvrir les micro-projectiles. Le transfert d'ADN superflu pose un problème de contrôle en ce qui concerne les directives concernant la libération d'Organisme Génétiquement Modifiée dans l'environnement.

Par conséquent, plusieurs stratégies ont été développées pour éviter le transfert de ces séquences additionnelles durant la transformation. L'incorporation du gène barnase autour de la séquence d'ADN-T est une approche qui fonctionne lors de la transformation médiée par *Agrobacterium*. Cela assure que les séquences d'ADN superflu lié à l'ADN-T seront éliminées dans toutes les cellules de la plante étant donné que l'expression du gène barnase est létale. Dans le cas de la biolistique, on a montré que les micro projectiles pouvaient être recouverts avec un minimum d'éléments (essentiellement le promoteur, le transgène et le site de polyadénylation), sans compromettre l'efficacité de la transformation.

Les systèmes de production : En général, les essais de transformation consistent à obtenir des plantes transgéniques capables de produire des protéines recombinantes en grande quantité. Ces essais font appel au dogme de la totipotence de la cellule végétale, c'est à dire que n'importe quelle cellule végétale somatique peut potentiellement reproduire un organisme entier.

L'objectif reste donc la régénération de plantes conformes. Ce sont ces plantes adultes qui constituent l'usine de production. Cependant ces dernières années de nouveaux systèmes de production ont été développés. Ainsi, on envisage de plus en plus de faire appel à des cellules végétales transformées et multipliées *in vitro* dans des bioréacteurs, donc cultivées dans des conditions qui se rapprochent des micro-organismes. Cette possibilité évite d'introduire des plantes dans les champs. De plus la manipulation de ces systèmes cellulaires est un second avantage

Les plantes transgéniques peuvent aussi être cultivées en champ avec accumulation de la protéine dans la plante et sécrétion dans les feuilles et/ou les racines

Cette technique fait appel à la transformation du génome nucléaire de la plante, par *Agrobacterium* ou par biolistique. Les vitroplants seront ensuite cultivés en champs ou en serre. Les organes adultes sont prélevés et l'on procède à une extraction et une purification des protéines à partir des tissus transgéniques. Cette technique a permis la production des principales protéines recombinantes disponibles sur le marché à l'heure actuelle. Cette technique permet d'obtenir un fort rendement en protéines, mais présente des difficultés concernant les calendriers de production. Enfin, elle est limitée par les directives concernant la dissémination des OGM.

L'expression transitoire est utilisée pour vérifier l'expression du transgène et pour produire rapidement de petites quantités de protéines, dont la présence peut être détectée. C'est souvent un préambule à des expériences à grande échelle.

La transformation chloroplastique

Pour plus de détails voir H.Daniell *et al*, 2004 Chloroplast Genetic Engineering in Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles pp 443-490 H.Daniell and C.D. Chase (Eds), Springer. Netherlands. ISBN 1-4020-2713-3.

Le transfert de gènes dans les chloroplastes, appelé transformation transplastidiale, a été réalisé, il y a plusieurs années. Ce transfert s'effectue par biolistique. Les chloroplastes sont environ au nombre de 100 par cellule végétale et chacun chloroplaste contient une centaine de copies du génome. Chaque cellule peut ainsi contenir jusqu'à 10 000 copies du transgène, ce qui est propre à assurer son expression à un niveau extrêmement élevé.

Le phénomène d'extinction du transgène intégré dans le noyau qui se produit fréquemment chez les plantes, n'existe pas dans les chloroplastes. Pour être sûre, l'intégration du transgène dans les chloroplastes ne doit pas être suivie d'un transfert dans le noyau.

Pour évaluer la fréquence de cet événement, une équipe de chercheurs a introduit un gène de résistance à un antibiotique sous la dépendance d'un promoteur actif seulement dans le noyau (le promoteur 35S de CaMV) et un second gène de résistance à un antibiotique placé, lui, sous le contrôle d'un promoteur actif seulement dans le chloroplaste.

L'intégration de gènes dans les chloroplastes se fait selon un processus de recombinaison homologue. Il est apparu que la fréquence de transfert du transgène du chloroplaste vers le noyau est très faible et qu'il n'y a pas expression du transgène. Par ailleurs, chez les Angiospermes, le plus souvent les chloroplastes du parent mâle ne participent pas au processus de fécondation, les chloroplastes étant essentiellement hérités de la cellule femelle lors de la fécondation. Le transgène n'est donc que très marginalement véhiculé par le pollen. Le système est alors efficace et semble donc un moyen très sûr pour éviter la dissémination incontrôlée de transgènes actifs.

La transformation chloroplastique a été réalisée avec le tabac et l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*. Une construction a permis à des chloroplastes de tabac d'exprimer ainsi des quantités très substantielles d'hormone de croissance humaine. Dans ces conditions, l'hormone est retrouvée dans les chloroplastes en raison de l'absence du motif nécessaire à sa sécrétion. La molécule est par ailleurs convenablement repliée en formant les deux ponts disulfures attendus. L'hormone est, de plus, biologiquement active.

La transformation de la plante après infection par un virus

Cette technique est notamment utilisée pour produire des anticorps et des vaccins. Elle permet la production de protéines recombinantes de petite taille à grande échelle. Pour cela on incorpore dans le génome nucléaire de la plante des vecteurs viraux pour améliorer l'expression de la protéine.

Le gène utilisé pour l'agriculture moléculaire est intégré à l'ARN ou à l'ADN du virus, puis la plante est infectée par le virus. On peut ainsi éviter les longues étapes de

transformation et de culture des tissus de la plante hôte. Ces vecteurs viraux sont sûrs, étant donné qu'ils ne peuvent fonctionner que sur un hôte génétiquement modifié et qu'ils ne peuvent pas donner de particules virales mûres capables d'entraîner une infection virale secondaire. L'avantage de cette technique est la rapidité d'expression du transgène, la diffusion systémique du virus permettant ainsi la production de protéine dans toutes les cellules de la plante et le fait que plus d'un vecteur viral puisse être utilisé pour la même plante permettant l'assemblage de protéines complexes.

Les cultures cellulaires ou cultures de tissus

Cette technique est utile lorsque la protéine recombinante nécessite une purification importante. En effet les protéines exprimées dans les cultures cellulaires peuvent être sécrétées dans le milieu de culture ou être maintenues dans la cellule. La localisation dépend de la protéine et de la perméabilité cellulaire. Les molécules de 20 à 30 kilos Dalton seront sécrétées dans le milieu de culture, alors que les plus grosses protéines (comme les IgG) seront le plus souvent maintenues dans la cellule.

De plus, cette technique permet un niveau de confinement élevé. L'inconvénient de la culture cellulaire est son coût plus élevé que la culture en champ, et un rendement limité ne permettant pas nécessairement une production à visée commerciale de ces protéines.

Les cellules de tabac sont actuellement les cellules les plus utilisées, bien que des protéines pharmaceutiques aient déjà été produites dans des cellules de soja, tomate et riz. Ainsi, de nombreux anticorps ont été produits dans des cultures cellulaires de tabac BY-2. D'autres protéines pharmaceutiques ont été obtenues dans des cultures cellulaires de plante, notamment l'interleukine, l'erythropoïétine et l'antigène de l'hépatite B.

Choix des espèces et des organes de production

Production dans les feuilles

Le tabac possède une longue histoire comme espèce de récolte dans l'agriculture moléculaire et est donc l'un des candidats les plus en vue pour la production commerciale de protéines recombinantes.

Les avantages principaux du tabac incluent une technologie bien établie pour le transfert et l'expression des gènes, un rendement élevé, la production de graines en très grand nombre et l'existence d'une infrastructure de traitement à grande échelle. Etant donné que le tabac n'est pas un aliment, il y a peu de risques qu'il puisse contaminer la chaîne alimentaire.

Bien que de nombreuses variétés de tabac produisent des niveaux élevés d'alcaloïdes, il existe des variétés produisant peu d'alcaloïdes et qui sont utilisées pour la production de protéines pharmaceutiques. On utilise aussi des suspensions de cellules de tabac qui accumulent peu de ces métabolites et offrent des perspectives de culture en fermenteurs.

L'alternative au tabac, c'est le soja, la luzerne et la laitue. La luzerne et le soja ont pour principal avantage d'utiliser l'azote atmosphérique, réduisant ainsi les besoins en engrais

azoté. La luzerne est particulièrement utile car elle offre une biomasse très élevée et peut être cultivée neuf mois dans l'année. La luzerne et le soja ont été employés pour produire des anticorps recombinants.

La laitue est actuellement étudiée pour la production de vaccins comestibles. L'inconvénient majeur de la production dans les feuilles est que les protéines recombinantes sont synthétisées dans un milieu aqueux et sont donc souvent instables, ce qui joue sur le rendement. Les feuilles doivent être gelées ou séchées pour le transport ou être traitées peu après la moisson afin d'extraire des quantités utiles du produit.

D'autre part, les feuilles de tabac contiennent des substances phénoliques qui sont libérées pendant l'extraction et qui peuvent interagir lors des traitements ultérieurs. Enfin, dans les feuilles, la carboxylase Rubisco contribue à elle seule pour 30 à 50% du stock protéiques, ce qui limite la production de protéine d'intérêt. L'expression des protéines recombinantes dans les organes végétatifs comme les feuilles peut potentiellement interférer sur la croissance et le développement des plantes, de plus, il existe un souci d'exposition potentielle envers les herbivores et de passage par excrétion des protéines recombinantes dans l'environnement.

Production dans les grains de céréales et dans les graines de légumineuses

Contrairement à la production dans les feuilles, l'expression des protéines dans les grains permet un stockage plus long, même à température ambiante, car les grains possèdent une biochimie appropriée à l'accumulation stable des protéines.

Il a été démontré que les anticorps exprimés dans les grains restent stables pendant au moins trois années à température ambiante. Cependant le rendement des protéines dans les récoltes de grains est inférieur à celui obtenu avec la production dans les feuilles. D'un autre côté, l'expression spécifique dans les grains est plus sûre car elle réduit l'exposition aux herbivores et aux organismes non ciblés.

Cependant il faut attendre la floraison pour obtenir les grains alors que la production dans les organes végétatifs ne nécessite pas que la plante fleurisse, ce qui limite le risque de dissémination du transgène par le pollen.

Du riz et du tabac ont été employés pour exprimer le même anticorps afin de comparer les mérites de chaque système de production. Avec le promoteur idéal (CaMV 35S pour le tabac et ubi-1 pour le riz) les rendements obtenus avec le riz sont plus élevés que ceux avec le tabac.

Production dans les fruits et les légumes

L'avantage majeur de la production de protéines recombinantes dans les fruits et les légumes est que ce sont des organes comestibles qui peuvent être consommés crus, non traités ou partiellement traités.

Ce sont donc des systèmes de production idéaux pour la production de vaccins recombinants et d'anticorps. Les pommes de terre sont le principal système utilisé pour la production de vaccins.

Les tomates possèdent d'autres avantages, notamment la possibilité de confinement en serre. Des tomates ont déjà été employées pour la production d'anticorps. Les bananes constituent des vecteurs attrayants pour la distribution de vaccins comestibles car elles sont consommées par les enfants et les adultes en Afrique, où des programmes de vaccination sont nécessaires.

Production dans les plantes oléagineuses et les fibres

On utilise ici le lin, le coton et le colza. Cependant la production de protéines recombinantes avec ce système de production offre un rendement peu élevé et est utile dans le cas de protéines ne nécessitant pas une purification importante (exception faite de la fusion avec l'oléosine).

Exemples de production de molécules bioactives par des plantes transgéniques

Au cours de ces 10 dernières années, plusieurs protéines d'intérêt pharmaceutique ont été produites dans les plantes. La première protéine pharmaceutique produite était l'hormone de croissance humaine exprimée dans du tabac transgénique en 1986. En 1989, le premier anticorps a été exprimé dans le tabac. L'authenticité structurale des protéines recombinantes issues des plantes a été confirmée en 1992, lorsque des plantes ont été utilisées pour produire un vaccin expérimental : l'antigène de l'hépatite B. Plus récemment la gamme de protéines recombinantes produites à partir des plantes transgéniques s'est enrichie et est présentée dans les différents tableaux de cet exposé.

Les protéines sanguines et plasmatiques

Les protéines sanguines et plasmatiques sont produites actuellement par extraction à partir d'échantillons de sang non retenu pour des besoins de transfusion. Cette méthode comporte certaines limites qui ont des répercussions sur l'industrie du fractionnement : d'une part les approvisionnements ne peuvent pas fluctuer avec la demande et d'autre part la source est considérée par le public comme dangereuse et variable, et fait l'objet d'ajouts réglementaires récurrents qui rendent son approvisionnement et son coût imprévisible.

Egalement, la contamination possible des sources par des virus et des prions demeure une préoccupation majeure. De nombreuses protéines plasmatiques ont déjà été produites chez les plantes. Ainsi l'albumine humaine, une protéine plasmatique utilisée

dans le contrôle de l'hypovolémie et de l'hypoalbuminémie survenant au cours de certaines interventions chirurgicales et comme excipient de plusieurs médicaments, a été produite avec succès dans la pomme de terre et le tabac. La quantité importante nécessaire pour répondre aux besoins fait donc de la plante un système idéal de production. D'autres protéines du même groupe comme l'apoprotinine, des encéphalines, et l'hémoglobine ont été produites dans divers systèmes végétaux d'expression.

Le collagène I, une molécule assemblée en triple hélice, impliquée dans plusieurs mécanismes complexe comme l'organogenèse, l'arrimage, la prolifération cellulaire, l'hémostase et la régénération de tissus, a également été produit dans du tabac, en vue d'une utilisation thérapeutique mais aussi dans l'industrie cosmétique.

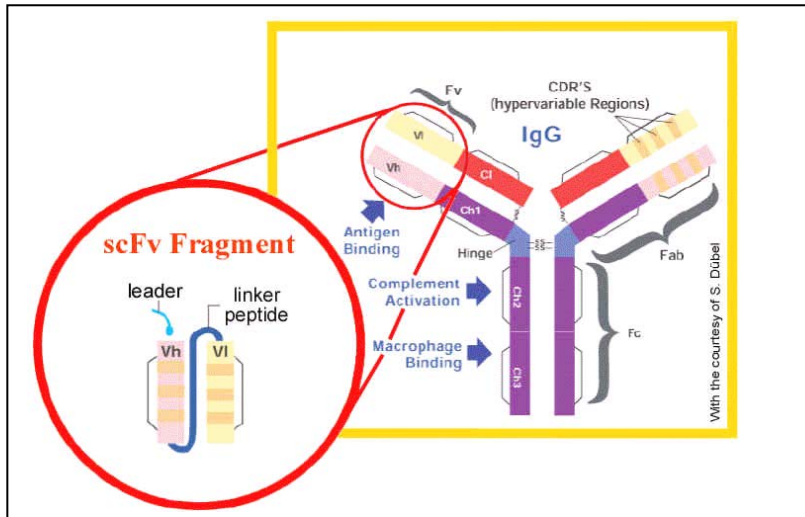
Les vaccins

La nature comestible des plantes représente un atout majeur dans la production de vaccins, qu'ils soient destinés à l'homme ou aux animaux. En effet, il est possible de déclencher une réponse immunitaire par administration d'un antigène par voie orale. Ainsi, dans le cas du virus de l'hépatite B, qui affecte plus de 2 milliards d'individus, un vaccin pouvant être facilement distribué et administré dans les pays en voie de développement est hautement souhaitable. Des études menées chez la souris ont démontré que l'ingestion de pomme de terre exprimant un antigène de surface du virus de l'hépatite B déclenche une réponse immunitaire. Plusieurs autres types d'antigènes, destinés à une administration orale ou parentérale, ont également été produits chez les végétaux, dans le but de vacciner contre différents pathogènes humains. Deux candidats aux vaccins recombinants sont actuellement en cours d'étude clinique. Il s'agit de l'antigène, dirigé contre la sous unité B d'*Escherichia coli* entérotoxigène, et celui dirigé contre la protéine de capsid du virus de Norwalk. Ces antigènes, de deux bactéries enteropathogènes sont exprimés dans la pomme de terre.

Les anticorps

La machinerie de biosynthèse et de maturation des protéines présente suffisamment d'homologie dans une cellule animale et dans une cellule végétale, pour que de très nombreuses protéines à usage pharmaceutique d'origine mammifère aient été déjà produites avec succès dans des plantes transgéniques.

Parmi ces succès majeurs, on peut citer la production de différents types d'anticorps recombinants tels que des IgG ou des IgA sécrétoires. Ces anticorps sont de plus en plus utilisés comme agents thérapeutiques et ils représentent aujourd'hui plus du tiers des protéines en cours d'essais cliniques aux Etats-Unis.



Les anticorps sont des molécules complexes. Ainsi, les immunoglobulines de classe G sont des tétramères constitués de deux polypeptides identiques de 450 acides aminés (chaînes lourdes) et de deux polypeptides identiques de 250 acides aminés (chaînes légères). Ces quatre polypeptides constitutifs d'une molécule d'IgG sont reliés entre eux par plusieurs ponts disulfure.

La complexité d'une IgA sécrétoire est encore plus grande puisque ces immunoglobulines sont constituées de quatre chaînes lourdes et de quatre chaînes légères reliées entre elles par deux polypeptides. L'assemblage d'une molécule d'IgA sécrétoire nécessite l'intervention successive de deux types cellulaires distincts chez les mammifères.

Ces deux types d'anticorps ont été produits avec succès sous forme biologiquement active dans des plantes transgéniques, ce qui illustre la grande capacité de la machinerie cellulaire végétale d'assemblage des protéines de mammifères, même lorsqu'elles sont extrêmement complexes.

Plus d'une centaine d'études cliniques utilisant des anticorps sont actuellement en cours dans le traitement de diverses maladies comme les dysfonctionnements du système immunitaire, les maladies inflammatoires, certains cancers, des désordres du système nerveux central et des maladies infectieuses.

Le tabac a initialement été utilisé pour la production d'anticorps. Aujourd'hui beaucoup d'anticorps sont produits dans les grains de céréales car l'accumulation de la protéine dans le grain permet un stockage à long terme, à température ambiante, sans perte d'activité. Des anticorps sont aussi produits dans des suspensions cellulaires. Aujourd'hui des anticorps et fragments d'anticorps sont produits dans divers systèmes végétaux, notamment des anticorps dirigés contre des immunoglobulines humaines, un antigène de *Streptococcus mutans*, la créatine kinase, et un antigène tumoral du cancer du côlon.

Un fragment d'anticorps (appelé scFv) a également été produit contre l'antigène carcino-embryonnaire, un marqueur de croissance tumorale.

Récemment, en 2003, des travaux ont décrits la production par des racines de tabac transgénique des fragments d'anticorps scFv dirigés contre des Interleukines humaines.

Les facteurs de croissance, hormones et cytokines

Les produits occupant la plus grande part de marché, dans cette catégorie, sont des facteurs de croissance du système hématopoïétique, l'érythropoïétine, G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), l'insuline. Plusieurs hormones et facteurs de croissance ont été exprimés dans le tabac : le GM-CSF, les interférons, l'érythropoïétine et l'EGF (epidermal growth factor).

L'interleukine-2 a été produite dans la luzerne avec une bioactivité comparable à celle de la protéine recombinante d'origine bactérienne couramment utilisée en thérapie.

Les enzymes et autres produits

Les enzymes constituent un groupe de produits biopharmaceutiques qui présentent un intérêt particulier pour le traitement de certaines maladies telles que les thromboses (urokinase), la maladie de Gaucher (algucérase) ou la mucoviscidose.

Les démonstrations faites chez les plantes pour la production d'enzymes à usage thérapeutique sont concluantes au niveau de l'activité, de la sécurité et des coûts. Citons en exemple la glucocérébrosidase qui est actuellement produite commercialement à partir d'extraits de placentas humains.

Jusqu'à 2000 placentas sont requis pour fournir une dose standard. Lorsque le gène codant pour la glucocérébrosidase est exprimé dans le tabac, le contenu d'une seule feuille suffit à fournir la dose unique nécessaire.

Seuls des problèmes liés à la glycosylation de la protéine mature retardent à ce jour l'entrée en test clinique de cette enzyme produite à partir des feuilles de tabac.

Enfin les plantes ont permis la production de protéines du lait : la caséine et le lysozyme qui pourraient être employés pour améliorer la santé infantile.

Protéine	Application et spécificité	Plante hôte
Protéines sanguines et plasmatiques : Albumine Aprotinine Collagène homotrimérique Enképhalines Hémoglobine	Contrôle du volume sanguin, excipient Anti-fibrinolytique Agent homéostatique, scellant tissulaire Analgésique Substitut sanguin	Pomme de terre, Tabac Maïs Tabac Tabac Tabac
Vaccins : Bet v 1 Sous unité de toxine B du choléra Glycoprotéine B du CMV Sous-unité de toxine B du choléra fusionnée avec insuline Peptide D2 de la protéine B liant la fibronectine de <i>S. aureus</i> VP1 Hemagglutinine Antigène de l'hépatite Entérotoxine B de <i>E. coli</i> Epitope de <i>P. falciparum</i> Protéine de capsid du virus de Norwalk Protéine g du virus de la rage Auto-antigène du diabète	Traitement des allergies de type I Traitement du choléra Traitement d'une infection par le cytomégalo-virus Traitement du diabète auto-immun Vaccin mucosal ne requérant pas d'adjuvant Traitement de la fièvre aphteuse Traitement de la grippe Traitement de l'hépatite B Traitement des diarrhées Traitement du paludisme Traitement des diarrhées causées par le virus de Norwalk Vaccination contre la rage Traitement du diabète auto-immun	Tabac Pomme de terre Tabac Pomme de terre Haricot noir Luzerne, Haricot noir Tabac Tabac, Pomme de terre Pomme de terre, Tabac Tabac Pomme de terre, Tabac Tabac, Epinard, tomate Pomme de terre
Anticorps : IgG C5-1 IgA contre <i>S. mutans</i> IgG contre la créatine kinase IgG contre l'antigène tumoral CO17-1A scFv contre antigène carcino-embryonnaire (CEA) IgG (HSV) LSC (HSV) IgM	Anti IgG diagnostique Prévention de la carie dentaire Anticorps diagnostique Traitement du cancer du colon Traitement des cancers Première protéine pharmaceutique produite dans le soja Premier exemple d'agriculture moléculaire dans une algue Première IgM exprimée dans une plante avec ciblage et accumulation de la protéine dans le chloroplaste	Luzerne Tabac Tabac Tabac Céréales Soja <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Tabac
Hormones, cytokines et facteurs de croissance : GM-CSF Interféron β Interféron α Somatotropine (hGH) Erythropoïétine Epidermal growth factor (EGF) Antitrypsine $\alpha 1$	Facteur de croissance hématopoïétique utilisé dans le traitement de neutropénie Traitement d'hépatite B et C Traitement d'hépatite B et C Traitement des désordres de croissance Traitement de l'anémie Contrôle de prolifération cellulaire Première utilisation de riz pour l'agriculture moléculaire	Tabac Tabac Tabac Tabac (chloroplastes) Tabac (cellules) Tabac Riz

Enzymes : Enzyme de conversion de l'angiotensine Protéine C Glucocérébrosidase α -trichosantine lipase gastrique	Hypertension Anti-coagulant Maladie de Gaucher Inhibe la réplication du VIH Traitement de la mucoviscidose	Tabac et Tomate Tabac Tabac Tabac Tabac
Autres : Hirudine Lactoferrine humaine	Anti-coagulant Anti-microbien	Tabac, Colza Tabac

The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants by Ma et al. 2003 Nat.Rev.Genet 4:794-805.).
 (HSV: herpes simplex virus, IgG: immunoglobuline G, IgM: immunoglobuline M, IgA: immunoglobuline A, CMV: cytomegalovirus, LSC: long single chain, scFv: single chain FV fragment).

Conclusions et perspectives pour l'industrie pharmaceutique

La production industrielle des biomolécules reposait de longue date sur des techniques traditionnelles faisant appel aux micro-organismes, levures, cellules animales... Ces techniques ont montré leurs limites très gênantes pour le futur.

Les chercheurs des secteurs pharmaceutiques et agro-alimentaires ont préconisé l'utilisation de cellules et de tissus des plantes supérieures, pour la production en grande quantité de protéines recombinantes. Les avantages de ces plantes transgéniques sont évidents : une production de biomasse importante et rapide, un rendement élevé, l'absence de contaminants, des coûts de production réduits, un surcroît de qualité et de l'activité biologique de la molécule produite et une possibilité de stockage offerte par une meilleure stabilité. Les travaux de référence concernent les succès obtenus dans la production industrielle des anticorps recombinants.

Le tabac reste la plante modèle pour les premiers essais à petite échelle. Effectivement, les chercheurs maîtrisent toutes les possibilités de transformation de cette plante et les différents programmes de morphogenèse *in vitro*, c'est-à-dire produire des cellules, tissus, et organes isolés en culture, évitant ainsi la culture en plein champs de la plante transgénique.

De plus, les organes tels que les racines isolées ou les colonies cellulaires placées dans des fermenteurs ou bioréacteurs, sont susceptibles de rejeter dans le milieu de culture la biomolécule recherchée.

Cette possibilité ouvre des avantages certains, et faciliterait en termes de coût, de temps, et de stratégie, toutes les opérations classiques de séparation, filtration, et purification.

Au point de vue du rendement, les chiffres publiés annoncent des progrès phénoménaux quant à l'accès pour tous aux médicaments de pointe : ainsi, un hectare de tabac permettrait la production d'un kilogramme d'immunoglobulines purifiées.

Et à terme, il suffirait de deux hectares de tabac pour remplacer la production mondiale actuelle d'immunoglobuline recombinante.

On ne peut s'empêcher de citer les résultats prometteurs sur la lipase gastrique utilisée dans le traitement de la mucoviscidose et sur l'hémoglobine, exemple de la molécule la plus prometteuse en production par la biomasse végétale. On peut aussi songer que de nombreux traitements seront conçus sur mesure pour les hommes, par l'expression spécifique de leurs propres gènes.

On pourra obtenir par exemple la production massive des propres anticorps d'un patient. Ces anticorps pourront par la suite être récoltés dans des plantes et administrés au patient pour l'aider à combattre une maladie comme certains cancers.

La perspective de l'intégration ciblée. Chez les Plantes Supérieures, les transgènes sont généralement intégrés de manière aléatoire, par recombinaison illégitime, que ce soit par biolistique ou via *Agrobacterium*. Jusqu'à une période très récente, l'intégration ciblée des transgènes n'avait été obtenue qu'avec une très faible fréquence, et seulement chez des espèces dicotylédones modèles.

En 2002, on a décrit pour la première fois, l'intégration ciblée de transgènes chez le riz, offrant ainsi de nouvelles perspectives pour les techniques de transgénèse chez les monocotylédones.

Les technologies d'intégration ciblée dans le génome des plantes permettront de contrôler qualitativement et quantitativement la présence des transgènes dans le génome végétal. Dans le contexte de l'agriculture moléculaire, cela conduira à l'intégration du seul gène d'intérêt codant pour la protéine recombinante, dans un locus donné du génome de la plante.

Cependant, il faut garder présent à l'esprit le fait que ces protéines recombinantes n'en sont aujourd'hui qu'au stade des études cliniques. En effet, peu de molécules ont déjà été mises sur le marché. De plus il faudra aussi prendre en compte la perception par le public de ces « nouveaux médicaments » obtenus à partir de matériel végétal génétiquement modifié.





En conclusion, la recherche biomédicale dispose d'un très bon créneau d'avenir. Un ensemble de compétences universitaires, pharmaceutiques, médicales et agroalimentaires très spécialisées, peuvent s'unir pour résoudre cet enjeu planétaire.

Pour s'en convaincre, il n'y a qu'à jeter un coup d'œil sur la liste des publications sur le sujet qui explose depuis 2007 et dont le dernier de 2011 qui entrevoit de grands espoirs sur la production de la thyroglobuline.

Rebecca P et al, Recombinant expression of homodimeric 660 kDa human thyroglobulin in soybean seeds: an alternative source of human thyroglobulin (2011) Plant Cell Rep 30:1327–1338.

X. Pour aller plus loin...

	<p>BIOLOGIE VEGETALE Raven. Evert, Eichhorn. Ed: Debeock Université. 6ième édition, 2000</p>
	<p>BIOLOGIE des plantes cultivées, Tome 2 Jean-Patrick Lafon, Catherine Tharaud-Prayer, Gilles Levy Ed: Techniques et documentation Lavoisier ,1998</p>
	<p>PHYSIOLOGIE VEGETALE, Tome 2 : Développement René Heller, Robert Esnaumt et Claude Lance) 6ème édition de l'Abrégé, Ed: DUNOD, 2000</p>
	<p>Dossier: DE LA GRAINE A LA PLANTE Marianne Delarue et Jean Traas (Hors-série POUR LA SCIENCE - Janvier 2000) L'architecture des plantes</p>

	<p>LES PLANTES 70 Clés pour comprendre ISBN 978-2-7592-2602-3 Ed: Quae (2017)</p>
	<p>LA PHOTOSYNTHESE : Processus physiques, moléculaires et physiologiques Jack Farineau, Jean-François Morot-Gaudry ISBN : 978-2-7592-2667-2 Ed: Quae (2018)</p>
	<p>LES VEGETAUX Les relations avec leur environnement Lydie Suty ISBN : 978-2-7592-2287-2 Editeur: Quae (2015)</p>
	<p>LES VEGETAUX Évolution, développement et reproduction Lydie Suty ISBN : 978-2-7592-2248-3 Editeur: Quae (2015)</p>



PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES, MENACE OU ESPOIR ?

J. Pernollet, 2015
 Editeur: Quae
 ISBN : 978-2-7592-2296-4



LES OGM A L'EPREUVE DES ARGUMENTS

S. Berthier, V. Péan (2011).
 Editeur: Quae
 ISBN : 978-2-7592-1651-2

*Si tu abandonnes une fois, cela peut devenir une habitude.
N'abandonne jamais.*